

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

UNIDAD DE POSTGRADO

**Métodos de sincronización de la onda folicular en base
a GnRH y LH y su efecto en la respuesta ovárica y tasa
de preñez en alpacas y llamas**

TESIS

**para optar el grado académico de Magíster en Producción y Reproducción
Animal**

AUTOR

Juan Carlos Andrade Salinas

Lima-Perú

2007

CONTENIDO

	Pág.
Resumen.....	iii
Abstract.....	iv
Contenido.....	v
Lista de cuadros.....	vii
Lista de figuras.....	viii
Lista de anexos.....	ix
I. Introducción.....	1
II. Revisión de Literatura.....	3
2.1 PUBERTAD.....	3
2.2 CONDUCTA SEXUAL.....	4
2.3 MECANISMO NEUROENDOCRINO EN EL CONTROL REPRODUCTIVO.....	6
2.3.1 Eje hipotálamo hipófisis ovario.....	6
2.4 DINÁMICA FOLICULAR.....	7
2.4.1 Dinámica folicular en Camélidos sudamericanos.....	9
2.4.2 Ovulación.....	11
2.5 CUERPO LÚTEO.....	14
2.5.1 Cuerpo lúteo en alpacas.....	15
2.5.2 Cuerpo lúteo en llamas.....	16
2.5.3 Niveles de progesterona.....	16
2.6 GESTACION.....	18
2.6.1 Implantación y placentación.....	18
2.6.2 Reconocimiento maternal de la preñez.....	19
2.6.3 Mortalidad embrionaria.....	20
2.7 DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN EN CAMÉLIDOS.....	21
2.8 SINCRONIZACIÓN HORMONAL DE LA ONDA FOLICULAR.....	22

III. Materiales y Métodos	25
3.1 UBICACIÓN.....	25
3.2 ANIMALES.....	25
3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	26
3.4 PROCEDIMIENTO METODOLÓGICO.....	27
3.4.1 Sincronización de la onda folicular.....	27
3.4.2 Determinación de la tasa de preñez.....	28
3.5 ANÁLISIS DE LOS DATOS.....	28
IV. Resultados	30
V. Discusión	35
VI. Conclusiones	41
VII. Bibliografía	42
VIII. Anexos	53

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1: Intervalo desde los tratamientos Control, GnRH y LH hasta la emergencia de la onda folicular en alpacas y llamas.....	30
Cuadro 2: Intervalo en desde el tratamiento hasta el día que el folículo alcanzó el tamaño preovulatorio en grupos Control, GnRH y LH en alpacas y llamas.....	31
Cuadro 3: Tamaño folicular un día antes del empadre (día 11 post tratamientos) en grupos Control, GnRH y LH en alpacas y llamas.....	32
Cuadro 4: Tasas de ovulación post tratamientos (Control, GnRH y LH) y tasa de ovulación post empadre en alpacas.....	32
Cuadro 5: . Tasas de ovulación post tratamientos (Control, GnRH y LH) y tasa de ovulación post empadre en llamas.....	33
Cuadro 6: .Tasa de Preñez en alpacas y llamas 35 días post empadre	34

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1 : Diseño experimental.....	29
-----------------------------------	----

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Ovulación a los tratamientos en alpacas y llamas.....	53
Anexo 2 : Ovulación post empadre en alpacas y llamas.....	54
Anexo 3 : Preñez en los grupos de tratamiento de alpacas y llamas.....	55
Anexo 4 : Día de emergencia folicular post tratamiento en alpacas y llamas.....	57
Anexo 5 : Día que alcanza el tamaño preovulatorio post tratamientos en alpacas y llamas.....	57
Anexo 6 : Tamaño folicular antes del empadre en alpacas y llamas.....	58
Anexo 7 : Anova de una vía para el día de emergencia, día que alcanza el tamaño preovulatorio y diámetro folicular (mm) antes del empadre en alpacas y llamas	58
Anexo 8 : Ficha de registro ecográfico de alpacas y llamas	61

RESUMEN

El efecto de sincronización de la onda folicular empleando GnRH y LH sobre la tasa de preñez fue estudiado en 60 alpacas hembras adultas, y 60 llamas hembras adultas. Las hembras con folículos ≥ 7 mm detectadas por ultrasonografía, fueron distribuidas al azar en tres grupos experimentales de 20 animales cada uno: grupo Control (1 ml de solución salina, IM); grupo GnRH (0.004 mg de acetato de buserelina, IM) y grupo LH (5 mg de LH, IM). La respuesta ovárica a los tratamientos se evaluó mediante ultrasonografía transrectal para determinar el intervalo en días, desde los tratamientos a la emergencia de la nueva onda folicular y el día en que el nuevo folículo dominante alcanzó ≥ 7 mm de diámetro. El intervalo desde los tratamientos a la emergencia de la onda folicular fue similar ($p > 0.05$) en los grupos Control (4.5 ± 1.2 días y 4.7 ± 1.2 días), GnRH (4.3 ± 1.4 días y 4.6 ± 1.2 días) y LH (4.5 ± 1.2 días y 4.0 ± 1.2 días), para alpacas y llamas respectivamente. El intervalo desde el tratamiento hasta el día en que el nuevo folículo dominante alcanzó ≥ 7 mm, no difirió en los grupos de alpacas Control (8.4 ± 1.9 días), GnRH (9.0 ± 1.6 días) y LH (7.9 ± 2.0 días) ($p > 0.05$). Entretanto en llamas, el intervalo desde los tratamientos a la presencia del nuevo folículo dominante en los grupos GnRH (7.9 ± 1.6 días) y LH (6.7 ± 1.6 días) fueron diferentes con el grupo Control (9.6 ± 1.0 días) ($p < 0.05$). El tamaño folicular en alpacas, un día antes del empadre fue menor en los grupos GnRH (6.8 ± 1.4 mm) y Control (7.2 ± 1.3 mm) comparado con el grupo LH (8.9 ± 1.9 mm) ($p < 0.05$). Adicionalmente en llamas, el tamaño folicular, un día antes del empadre fue diferente ($p < 0.05$) entre los grupos Control (6.4 ± 1.3 mm), GnRH (8.5 ± 0.6 mm) y LH (10.4 ± 3.6 mm). El empadre se realizó 12 días después de los tratamientos. Los animales fueron evaluados por ultrasonografía para determinar la tasa de ovulación el día 2 después del empadre y la tasa de preñez el día 35 después del empadre. La tasa de ovulación post empadre fue similar en los grupos control (85.7% y 64.7%), GnRH (94.4% y 88.9%) y LH (85.7% y 77.8%), para alpacas y llamas, respectivamente. La tasa de preñez en el día 35 después del empadre fue similar para todos los grupos ($p > 0.05$), Control (78.6% y 47.1%), GnRH (77.8% y 66.7%) y LH (64.3% y 72.2%) para alpacas y llamas, respectivamente. En conclusión, la sincronización con GnRH o LH no influyó en el intervalo desde los tratamientos a la emergencia de la nueva onda folicular, tasa de ovulación post empadre, ni la tasa de preñez en alpacas y llamas.

Palabras Clave: alpacas, llamas, sincronización, onda folicular, GnRH, LH, tasa de ovulación, tasa de preñez.

ABSTRACT

The effect of follicular wave synchronization using GnRH and LH on pregnancy rate was studied in 60 adult female alpacas, and 60 adult female llamas. Females with follicles ≥ 7 mm detected by ultrasonography were randomly allocated in three experimental groups of 20 animals each one: Control group (1 ml saline solution, IM), GnRH group (0.004 mg of buserelin acetate, IM) and LH group (5 mg of LH, IM). The ovarian response to treatments was evaluated by transrectal ultrasonography to determine the interval in days from treatments to new follicular wave emergency and to the day which the new dominant follicle reached ≥ 7 mm in diameter. The intervals from the treatments to follicular emergency were similar ($p > 0.05$) in Control (4.5 ± 1.2 days and 4.7 ± 1.2 days); GnRH (4.3 ± 1.4 days and 4.6 ± 1.2 days) and LH groups (4.5 ± 1.2 days and 4.0 ± 1.2 days), for alpacas and llamas respectively. The interval from the treatment to the day on which the new dominant follicle reached ≥ 7 mm in alpacas did not differ in Control (8.4 ± 1.9 days), GnRH (9.0 ± 1.6 days) and LH (7.9 ± 2.0 days) groups ($p > 0.05$). Meanwhile in llamas, the interval from the treatment to the presence of the new dominant follicle in GnRH (7.9 ± 1.6 days), and LH (6.7 ± 1.6 days) groups were different in comparison to Control group (9.6 ± 1.0 days) ($p < 0.05$). Follicular sizes in alpacas a day before mating were smaller in GnRH (6.8 ± 1.4 mm) and Control (7.2 ± 1.3 mm) groups in comparison to LH group (8.9 ± 1.9 mm) ($p < 0.05$). Additionally, in llamas follicular size a day before mating was different ($p < 0.05$) among Control (6.4 ± 1.3 mm), GnRH (8.5 ± 0.6 mm) and LH (10.4 ± 3.6 mm) groups. Mating was permitted 12 days after treatments. Animals were evaluated by ultrasonography to determine ovulation rate on day 2 after mating and pregnancy rate on day 35 after mating. After mating, ovulation rate were similar in Control (85.7% and 64.7%), GnRH (94.4% and 88.9%) and LH (85.7% and 77.8%) groups, for alpacas and llamas, respectively. Pregnancy rate on day 35 after mating were similar for all groups ($p > 0.05$), Control (78.6% and 47.1%), GnRH (77.8% and 66.7%), and LH (64.3% and 72.2%) for alpacas and llamas, respectively. In conclusion, synchronization with GnRH or LH did not affect on the intervals from treatments to emergency of new follicular wave, ovulation rate post mating, nor pregnancy rate in alpacas and llamas.

Key words: alpacas, llamas, synchronization, follicular wave, GnRH, LH, ovulation rate, pregnancy rate.

I. INTRODUCCIÓN

Los camélidos sudamericanos, como la alpaca y la llama, son especies económicamente importantes en las zonas altoandinas, principalmente por la producción de su fibra y carne. Sin embargo, existen factores que afectan a la producción de estos camélidos entre los que se puede señalar la baja eficiencia reproductiva como una importante limitante. Asimismo, para elevar la producción y productividad de estos animales se tendría que mejorar las prácticas tecnológicas de su crianza.

Una alternativa tecnológica sería la manipulación del crecimiento folicular ovárico, empleando tratamientos hormonales. En ese sentido, la sincronización de la emergencia de la nueva onda folicular permite el desarrollo de un nuevo folículo dominante. Asimismo, el control del desarrollo folicular facilita la aplicación de tecnología reproductiva asistida (Miragaya *et al*, 2005).

En llamas, la aplicación de progesterona inhibe la actividad folicular permitiendo la emergencia de un nuevo folículo dominante después de terminado su efecto. Asimismo, con la administración de estrógenos se observa similar presencia de un folículo dominante días después del tratamiento (Miragaya *et al*, 2005). Por otro lado, se han venido evaluando los diversos tipos de tratamientos hormonales dirigidos a inducir la ovulación y superestimulación ovárica para fines de transferencia embrionaria en camélidos sudamericanos (Adams y Ratto, 2001) reportándose la existencia de

diferencias fisiológicas entre alpacas y llamas con respecto al desarrollo de las ondas foliculares, tasa de recuperación y calidad embrionaria.

En llamas, se han estudiado tratamientos hormonales con LH, estrógenos/progesterona (Ratto *et al*, 2003), y un análogo de GnRH para sincronizar la emergencia de una nueva onda folicular en diferentes etapas de su dinámica folicular (Ferrer *et al*, 2002) como posibles protocolos para inducir el crecimiento de una nueva onda folicular. En ese sentido, la manipulación del crecimiento folicular ovárico, mediante la sincronización de la emergencia de la nueva onda folicular con tratamientos hormonales permitiría controlar el desarrollo del nuevo folículo dominante, y posteriormente este tratamiento podría tener influencia sobre la tasa de preñez. Sin embargo, se requieren de estudios para conocer las posibles diferencias en la sincronización de la dinámica folicular ovárica en alpacas y llamas. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue comparar el efecto de los tratamientos hormonales con GnRH y LH sobre la sincronización de la onda folicular ovárica y su efecto en la tasa de preñez en alpacas y llamas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 PUBERTAD

El mecanismo fisiológico que origina la aparición de la pubertad está controlado por el sistema nervioso central (SNC). El SNC regula la aparición de la pubertad mediante la síntesis y secreción en el hipotálamo de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). Durante la etapa prepúber, la secreción de GnRH está restringida como consecuencia de la elevada sensibilidad del hipotálamo frente al efecto inhibidor (retroalimentación negativa) originado por la baja concentración de estrógenos que secreta el ovario prepúber. Para que se inicie la pubertad en las hembras, es necesaria la disminución gradual en la sensibilidad del hipotálamo a la retroalimentación negativa provocada por las bajas concentraciones de estrógenos. De esta forma, el hipotálamo comienza a secretar GnRH, que a su vez estimula la liberación de FSH y LH permitiendo así a los folículos sobrepasar la fase de folículo preantral y transformarse en folículo antral. Este efecto positivo estimula la secreción del pico de LH necesario para desencadenar la ovulación y luteinización folicular, y por tanto, la actividad cíclica ovárica. La retroalimentación positiva se establece gradualmente durante el periodo de transición de la pubertad (García *et al*, 1995).

Un animal ha alcanzado la pubertad cuando es capaz de liberar gametos y de manifestar secuencias completas de comportamiento sexual. (Hafez, 2002). Al inicio de

la pubertad aumentan las concentraciones circulantes de gonadotropinas FSH y LH, responsables de la generación de la actividad cíclica del ovario, debido al aumento de la amplitud y de la frecuencia de los pulsos periódicos de tales sustancias. Esto se debe a los esteroides sexuales y probablemente a un aumento en la reactividad de la GnRH secretada por el hipotálamo para regular las gonadotropinas (Hafez, 2002; García *et al* 1995). Por otro lado, existen estudios que señalan a la hormona leptina, necesaria para la secreción de GnRH y la activación del eje hipotálamo pituitario gonadal. Asimismo, se ha evidenciado que niveles elevados de leptina están asociados con el inicio de la pubertad (Mantzoros, 2000; Chan y Mantzoros, 2001; Cervero *et al*, 2006).

En la alpaca, se estimó que la fertilidad en hembras a una edad de 12 a 14 meses con un peso de 40 Kg fue de 66% (Novoa *et al*, 1972). En este sentido, Leyva y Sumar, (1981) determinaron que existe una relación entre el peso corporal y el inicio de la monta demostrando que la hembra que alcanza el 60% de su peso adulto (≥ 33 Kg) puede reproducirse sin problemas. Por otro lado, en un estudio realizado por Chiri *et al* (2001) encontraron que el 70% de llamas al año de edad con un peso promedio de 56.5 Kg alcanzaron la pubertad. Sin embargo, en la mayoría de explotaciones, empadran a sus animales a partir de los 2 años de edad lo que demuestra una pérdida del potencial reproductivo de estos animales, a lo que se suma una tasa de fertilidad de 50% en promedio dando como resultados que solo la mitad de ellas pueden tener crías a los 3 años y el resto a los 4 años o más (Novoa, 1992).

2.2 CONDUCTA SEXUAL

El origen del comportamiento de la receptividad sexual durante el estro está directamente relacionado con las variaciones en la concentración sanguínea de las hormonas estrógenos y progesterona, las cuales actúan en centros del sistema nervioso central relacionados con la conducta determinando este comportamiento sexual (García *et al*, 1995).

Los camélidos no presentan un ciclo estral definido que sea comparable en otras especies (Novoa, 1992; Zuñiga, 1958; Rodríguez, 1959). Se ha observado que a partir de los 12 meses de edad en alpacas muestran una conducta sexual similar a las adultas de 2 a mas años de edad (Novoa, 1972). Las alpacas o llamas hembras, en ausencia de la estimulación copulatoria, muestran periodos de receptividad sexual hasta de 36 días, con breves periodos de rechazo al macho, que puede durar 48 horas (San Martín *et al*, 1968).

Las hembras, cuando están separadas de los machos y el apareamiento se realiza solamente una vez al mes, muestran actividad sexual frente a los machos durante todo el año (Fernández Baca *et al*, 1971). La hembra receptiva adopta una posición particular, a veces intenta escapar después de un breve periodo de persecución por parte del macho o se acerca a un macho que esta copulando a otra hembra y adopta la posición característica (San Martín *et al*, 1968).

Las hembras no receptivas rechazan los requerimientos del macho, escapando y escupiendo, aunque machos muy agresivos pueden forzar a algunas hembras sobretodo a las primerizas a adoptar la posición de cópula, saltando sobre ellas, presionando los flancos con sus miembros anteriores y aprovechando su mayor masa corporal para realizar la monta (Sumar, 1993).

La actividad sexual es intensa al inicio del apareamiento, posteriormente va disminuyendo en intensidad, tal es así que en el primer día de empadre mas del 50% de las hembras son servidas y muchas de ellas reciben hasta 5 ó 6 servicios ese día, siendo la actividad de los machos muy intensa realizando hasta 15 servicios el primer día con una duración de 5 – 40 minutos cada uno. Sin embargo, la duración de la cópula varía en relación a la frecuencia de montas del macho, siendo el primer servicio más prolongado que los sucesivos en el mismo día del empadre y a la competencia entre ellos mismos (Fernández Baca, 1971).

2.3 MECANISMO NEUROENDOCRINO EN EL CONTROL REPRODUCTIVO

2.3.1 Eje hipotálamo-hipófisis-ovario

El hipotálamo es un órgano que produce neurosecreciones y con ayuda de hormonas liberadoras e inhibidoras de la liberación, gobierna la secreción de las hormonas adenohipofisarias (Arthur, 1991). En el hipotálamo las células neuronales parvicelulares producen la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), la cual es secretada en forma pulsátil, regulando y controlando la liberación y secreción de hormonas gonadotróficas como folículoestimulante (FSH) y luteinizante (LH) de la hipófisis, responsables del control de la actividad ovárica, de la secreción de hormonas esteroides y la ovulación (Arthur, 1991; Hafez, 2002).

El rol principal de la secreción de LH es la inducción de la ovulación, luego de la cual las células del folículo ovulatorio se luteinizan y empieza la secreción de progesterona, la cual tiene un efecto de retroalimentación negativa en el hipotálamo, al evitar la secreción de GnRH y desensibilizar a los gonadotrófos a la acción de la GnRH (Stevenson, 1997).

La retroalimentación positiva de la cascada de oxitocina desde el cuerpo lúteo al útero y de la prostaglandina $F2\alpha$ desde el útero al cuerpo lúteo probablemente sirve como un mecanismo que asegura la luteólisis. Producida la luteólisis, los niveles de progesterona declinan conjuntamente con el efecto inhibitorio de la progesterona sobre el hipotálamo y la hipófisis permitiendo el resurgimiento de los niveles de LH para iniciar un nuevo ciclo (Stevenson, 1997).

En experimentos realizados por Leyva y García (1999c) se infiere que el eje hipotalámico-hipofisiario de la alpaca en celo es sensible al efecto inhibitorio de la progesterona, sugiriendo que los días de celo que normalmente presentan las alpacas después de la ovulación, es porque los niveles de progesterona secretados por el cuerpo lúteo en formación son aún insuficientes para ejercer este efecto inhibitorio.

Los camélidos no presentan ciclos cíclicos sino, son especies de ovulación inducida debido a que sus folículos ováricos no se rompen espontáneamente, permaneciendo intactos hasta recibir estímulo (San Martín *et al*, 1968). La estimulación coital en estas especies provoca un reflejo neuroendocrino que activa el centro de la GnRH permitiendo la secreción pulsátil de LH y la ovulación (Arthur, 1991; Fernández Baca *et al*, 1970c).

2.4 DINÁMICA FOLICULAR

El desarrollo de la onda folicular se inicia con el agrupamiento de folículos (reclutamiento) precedido de la emergencia de un folículo (Fortune *et al*, 1991). Cada onda folicular consiste en un grupo de folículos antrales reclutados por un pico de FSH, en donde los folículos de 3mm que son observados primero tienen un crecimiento similar, hasta un momento en que uno se vuelve dominante y continúa creciendo, mientras que los demás sufren atresia. El folículo dominante tiene tres fases de desarrollo: crecimiento (incrementa su diámetro), estática (cambios mínimos en el diámetro) y regresión (disminuye su diámetro) (Stevenson, 1997).

La FSH tiene una función importante en el inicio de la formación del antro folicular. Esta gonadotropina (FSH) estimula la mitosis de las células de la granulosa y la formación de líquido folicular, mientras que la LH actúa sobre las células de la teca para producir testosterona que pasa a la granulosa para transformarse en estradiol 17 β . Además, la FSH induce la sensibilidad de las células de la granulosa hacia la hormona luteinizante al incrementar el número de receptores para esta última (Hafez, 2002). La hormona LH tiene un efecto positivo en el diámetro del folículo mas grande, pero no hasta después del inicio del diámetro de desviación (selección). Los receptores de LH en las células de la granulosa incrementan la producción de estradiol por el folículo dominante y la inhibición de las concentraciones circulantes de FSH. El mecanismo de desviación (selección) se inicia cuando las concentraciones de FSH son bajas (Ginther *et al*, 2003). Las bajas concentraciones después de la desviación controlan el intervalo de la emergencia de la subsecuente onda folicular (Ginther *et al*, 2002).

En los animales domésticos los primeros folículos antrales aparecen durante el periodo prepuberal. El desarrollo de folículos antrales pequeños no es estrictamente dependiente de gonadotropinas sino que los factores locales FGF (factor de crecimiento fibroblástico), EGF (factor de crecimiento epidérmico) y el IGF (factor de crecimiento semejante a la insulina) tienen influencia directa en el desarrollo folicular al promover la proliferación de las células de la granulosa (Monniaux *et al*, 1997). Los factores de crecimiento serían activadores de receptores que promueven la supervivencia y proliferación para contrarrestar los efectos de factores que inhiben el crecimiento de la célula y que bajo ciertas circunstancias promueven la apoptosis (Anderson, 1997).

El IGF-I sería un inhibidor de la apoptosis de las células de la granulosa en los folículos antrales tempranos y preovulatorios (Chun *et al*, 1996). Se sugiere que las gonadotropinas actuarían inhibiendo la apoptosis en las células de la granulosa al reducir la expresión de la IGFBPs e incrementa la expresión de la IGF-I (Hammond *et al*, 1991). El factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor de crecimiento fibroblástico (FGF) inhiben la apoptosis de células de la granulosa en folículos preovulatorios y la activina lo hace en folículos antrales tempranos (Chun *et al*, 1996; Thomas *et al*, 2003). Asimismo, niveles elevados de óxido nítrico, cuya síntesis se ve incrementada con la producción de interleucina 1 (IL-1) que es estimulada por la LH, serían capaces de reducir la apoptosis en células de la granulosa en bovinos (Basini *et al*, 1998).

Al emerger el folículo dominante incrementa su producción de estradiol y de inhibina que tiene como consecuencia, la maduración sostenida de dicho folículo y la restricción del crecimiento de otros folículos (Monniaux *et al*, 1997). El desarrollo de los folículos terminales es dependiente estrictamente de gonadotropinas dado que su crecimiento está caracterizado por un fuerte incremento en la sensibilidad a la FSH por sus células de la granulosa (Monniaux *et al*, 1997), debido a la acción temprana de factores locales como IGF-1, activina e inhibina; a diferencia de los folículos subordinados que parecen no desarrollar estos mecanismos de sobrevivencia por lo cual se vuelven atrésicos y a que cuando el folículo dominante alcanza el tamaño preovulatorio adquiere receptores de LH en la granulosa, probablemente por influencia del estradiol, permitiéndole sobrevivir al

descenso de FSH que ocurre previo al pico preovulatorio de LH , que es potencial para la ovulación (Findlay,1993).

En consecuencia, la integración de señales extraováricas (paracrinas) y factores intrafoliculares (autocrinas) serían los que determinan si un folículo continuará su desarrollo o seguirá el camino a la atresia (Webb *et al*, 2003). Fortune *et al* (1991), determinaron que el ganado vacuno exhibe 2 ó 3 ondas de desarrollo folicular durante un ciclo estral. Las ondas consisten de la aparición de aproximadamente cada 7 días de un grupo de folículos mayores o iguales a 5 mm de diámetro.

2.4.1 Dinámica folicular en Camélidos Sudamericanos

En los camélidos sudamericanos se observa el desarrollo de ondas foliculares cíclicas, relacionado con el crecimiento, maduración y atresia del folículo dominante (Bravo y Sumar, 1989). Las tres fases o estadios descritos son crecimiento, maduración y regresión (Bravo *et al*, 1990a). En el estadio de maduración o estático el folículo dominante inhibe el desarrollo de los folículos más pequeños (Bravo *et al*, 1990a), reportándose una relación inversa entre el diámetro del folículo dominante y el número de folículos pequeños (Adams *et al*, 1990). El folículo dominante parece controlar su duración (Adams, 2001), puesto que si no hay ovulación se atresia, reconociéndose un nuevo folículo 2 a 3 días después de la primera disminución de tamaño del folículo dominante (Bravo *et al*, 1990a).

El desarrollo de la onda folicular en alpacas se da de manera alterna en ambos ovarios, esto se comprueba con la presencia del folículo dominante en ambos ovarios en un 85% (Fernández-Baca, 1993) en donde uno de los ovarios presenta folículos de tamaño ovulatorio mientras que en el otro van creciendo otros folículos que rápidamente adquirirán el tamaño ovulatorio cuando en el anterior se vuelven atrésicos (Bravo *et al*, 1990a; Fernández-Baca, 1993; Brown, 2000), explicándose los largos periodos de aceptación de la hembra frente al macho. La receptividad se observa cuando el folículo tiene diámetros ≥ 6 mm (Bravo *et al*, 1989). El crecimiento del folículo dominante (≥ 6

mm) está relacionado con la regresión de los folículos subordinados, estando la inhibina relacionada con la inhibición de los folículos pequeños (Adams *et al*, 1990; Bravo *et al*, 1990a).

En el caso de que la hembra no reciba el estímulo ovulatorio continuarán desarrollándose ondas foliculares anovulatorias en camélidos sudamericanos (Bravo *et al*, 1990a; Adams *et al*, 1990). Es decir, si no ocurre cópula el folículo dominante se atresia y el nuevo folículo dominante puede ser reconocido 2 a 3 días después que se da el descenso de tamaño del folículo dominante presente inicialmente (Bravo *et al*, 1990a). Sin embargo, después de la cópula, de la ovulación y de la formación del cuerpo lúteo se produce la emergencia de una nueva onda folicular con presencia de un folículo dominante que no llega a ovular y posteriormente regresa (Araínga, 2002). En el ovario de las llamas pueden encontrarse en cualquier momento más de un folículo, pero sólo uno desarrolla el mayor tamaño ($> 7\text{mm}$) y se vuelve dominante (Adams *et al*, 1990; Bravo *et al*, 1990a)

En los camélidos las ondas foliculares tienen una duración de 10 a 12 días (Bravo *et al*, 1990a). Bravo y Sumar (1989), encontraron que el crecimiento folicular toma en promedio 4 días (3–5 días) para alcanzar el tamaño ovulatorio (8-12 mm) los cuales perduran en promedio 4 días (2-8 días), con folículos que subsecuentemente sufren atresia durante un periodo de 4 días (3- 5 días).

El intervalo entre las ondas foliculares no ovulatorias en alpacas es de 15.4 ± 0.5 días (Vaughan, 2001; Vaughan *et al*, 2004) y en llamas de 18 ± 2.6 días (Chaves *et al*, 2002) y se sugiere que la extensión de estos intervalos varía en relación con el diámetro del folículo dominante, es decir, un menor intervalo estaría asociado con el menor diámetro del folículo. En llamas, los intervalos entre los sucesivos folículos dominantes que emergen, según Adams *et al* (1990) son de 19.7 días para llamas vacías y 14.8 días para llamas preñadas, siendo menores en llamas lactantes (Adams *et al*, 1990); mientras que Bravo *et al* (1990a) reportan en llamas entre 1 a 2 meses posparto un intervalo entre ondas de 11.1 días en promedio.

2.4.2 Ovulación

El folículo dominante es el que contiene una mayor concentración de estrógenos que van a actuar como un indicador de maduración, provocando, mediante un efecto de retroalimentación positiva, tanto en el hipotálamo como en la hipófisis una secreción masiva de LH, conocida como “pico de LH”. La acción del pico de LH está dirigida a activar la maduración final y ovulación del folículo dominante, los restantes folículos son eliminados por atresia folicular. La secreción del pico de LH, desencadena una serie de cambios bioquímicos y morfológicos en el folículo que culminan con la maduración del ovocito primario, ruptura de la pared folicular y la consiguiente salida al exterior del óvulo maduro (García *et al*, 1995).

En la mayoría de rumiantes domésticos la ovulación ocurre de manera espontánea y se produce al final del estro, cuando la LH llega a su pico preovulatorio y los niveles de estrógenos están descendiendo (Hafez, 2006). En algunas especies, la ovulación no se produce espontáneamente sino, que es inducida por la estimulación de la cervix durante la cópula. Entre las especies de ovulación inducida se encuentran la alpaca y la llama (García *et al*, 1995). En este caso, para que las hembras ovulen naturalmente es necesaria la penetración con un tiempo de cópula adecuado. Mientras que, las alpacas montadas por otras hembras o alpacas montadas sin copulación no llegan a ovular (Fernández Baca *et al*, 1970c).

En alpacas y llamas la ovulación inducida por la cópula, ocurre aproximadamente 26 a 30 horas después del estímulo copulatorio (San Martín *et al*, 1968; England *et al*, 1969; Adams *et al*, 1990) y de manera artificial 24 a 30 horas post administración de las hormonas gonadotropina coriónica humana (hCG), hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) u hormona luteinizante (LH) (Fernández Baca *et al*, 1971; Leyva, *et al*, 1999 b, c; Aller *et al*, 1999; Huanca *et al*, 2001). Asimismo, la administración intravaginal de semen de alpaca y bovino inducen a la ovulación en alpacas (Ríos, 1989). Mientras que, la administración intramuscular de plasma seminal

de llamas y alpacas y en menor grado el plasma seminal de toro provocan la ovulación en llamas (López, 2004).

Por otro lado se han reportado casos de ovulación espontánea sin previa cópula en llamas (Adams, *et al*, 1989; Adams *et al*, 1991). Es así que, en alpacas, se atribuye a los estímulos olfatorios, auditivos y visuales, los cuales pueden tener una influencia sobre la ocurrencia de ovulación espontánea (Fernández Baca *et al*, 1970c).

La descarga de la hormona LH es la responsable de la ovulación (en especies de ovulación espontánea como en los de ovulación inducida) (Hafez, 2002). El incremento de las concentraciones de LH ocurre 15 minutos después de iniciada la cópula (Bravo *et al*, 1992). Luego de la cópula la concentración de LH incrementa de 1-2 ng/ml a 5-7 ng/ml (Aba *et al*, 1995). Las concentraciones de LH incrementadas se mantienen por 5 horas volviendo a su nivel basal (0.96 ng/ml) a las 7 horas (Bravo *et al*, 1992).

Existe una relación muy marcada entre el tamaño del folículo y la liberación de LH (Bravo *et al*, 1991). En un estudio se señala que en llamas y alpacas hembras con folículos pequeños liberaron menores cantidades de LH (29.1 ng/ml/6h), lo cual no fue suficiente para producir ovulación; por el contrario, estimuló un continuo desarrollo del folículo dominante. Mientras que, aquellas con folículos mayores a 7 mm liberan cantidades suficientes de LH hipofisiaria (55.1 a 62.4 ng/ml/h) suficientes para producir la ovulación y formación de un cuerpo lúteo normal y, en el caso de las hembras que tuvieron folículos en regresión superiores a 7 mm, a pesar de haber liberado cantidades suficientes de LH (63.7 ng/ml/h) los folículos fueron luteinizados en lugar de ovular y la estructura luteal que se formó tuvo una duración de 5.1 días (Bravo *et al*, 1991).

La ovulación inducida por la cópula es el estímulo nervioso que va al hipotálamo para desencadenar la liberación de GnRH, la cual actúa sobre la hipófisis estimulando la secreción de LH (Fernández Baca *et al*, 1970c; Bravo *et al*, 1990).

Bravo *et al* (1990b) demostraron en llamas, que el estrógeno desarrollado de los folículos ováricos no induce la descarga ovulatoria de la LH, sino que hubo un surgimiento de la LH subsiguiente a la cópula. Además, los niveles de 17β estradiol se mantienen iguales por 18 horas post servicio (12 pg/ml) tendiendo a declinar a las 22 horas y siendo significativamente baja en las 48 horas post-cópula (5.5 pg/ml) (Bravo *et al*, 1990b).

En llamas vacías el folículo dominante de la primera onda folicular luego de la ovulación, es de menor tamaño que el de la segunda onda folicular, probablemente porque la segunda onda folicular ocurre cuando se produjo la luteólisis. Mientras que, en llamas preñadas, el folículo dominante de la segunda onda folicular es de menor tamaño que el de la primera onda folicular, debido probablemente a que el primer folículo dominante inicia su desarrollo cuando la progesterona todavía no ha alcanzado sus niveles máximos, mientras que el segundo folículo dominante desarrolla bajo total dominancia luteal (Adams *et al*, 1991).

No todos los servicios son efectivos en inducir la ovulación aún cuando ellos se repitan en la misma hembra hasta tres veces dentro de 24 horas. Aproximadamente un 20% de hembras con ovarios aparentemente activos no responden con ovulación a la monta simple o múltiple (Fernández Baca *et al*, 1970c). Esto puede deberse a que los machos usados sean incapaces de proporcionar el estímulo adecuado para inducir la ovulación. Además, de existir una sensibilidad disminuida de los folículos a los niveles circulantes de LH debido a las variaciones en los estados de maduración folicular. Estas fallas en la ovulación pueden constituir un factor importante de baja fertilidad, aún cuando en condiciones de empadre a campo las hembras que no han ovulado tienen nuevas oportunidades de ser montadas puesto que continúan en celo (Fernández Baca, 1971).

Las ovulaciones múltiples pueden ocurrir en el 10% de los casos después del empadre natural, estos óvulos son fertilizados y su desarrollo inicial parece ser normal hasta los 30 días, sin embargo, no hay desarrollo a una gestación más avanzada. Asimismo, se ha

observado en el 20% de los casos de animales a los cuales se les administraron gonadotropinas después de la administración de hCG (Sumar, 1983; Fernández Baca, 1993).

2.5 CUERPO LÚTEO

Producida la ovulación se da inicio a la organización estructural y funcional del cuerpo lúteo (CL) por acción de la LH. Las células tecales se luteinizan para dar lugar a las células luteales pequeñas, además se produce la hipertrofia y luteinización de las células de la granulosa dando lugar a las células luteales grandes; ambas células luteales son responsables de secretar progesterona (P4) (Hafez, 2002).

Al producirse la ovulación como consecuencia del estímulo coital, el folículo roto da lugar a la formación del cuerpo lúteo, independientemente de la fertilización del óvulo liberado (Fernández Baca *et al*, 1970b). El cuerpo lúteo se forma por hiperplasia e hipertrofia de las células de la granulosa y por posible hiperplasia de las células de la teca interna (Fuertes, 1961). Fernández Baca *et al* (1971) y Adams *et al* (1991) indican que existe relación entre el desarrollo del cuerpo lúteo y el perfil secrecional de progesterona en las alpacas y llamas. Asimismo, las concentraciones incrementan significativamente desde el cuarto día post cópula (Aba *et al*, 1995).

2.5.1 Cuerpo lúteo en alpacas

El cuerpo lúteo en la alpaca desarrolla de manera rápida después de ocurrida la ovulación alcanzando su máximo tamaño y actividad secretora entre los días 8-9 post servicio. En ausencia de preñez, el cuerpo lúteo declina claramente en tamaño y actividad secretoria para el día 12 completando su regresión hasta el día 18 (Fernández Baca *et al*, 1970b). Sin embargo, en hembras preñadas, el tamaño del cuerpo lúteo permanece casi inalterado después de alcanzar el máximo desarrollo, el cual ocurre después del día 8 post servicio para el mantenimiento de la preñez (Fernández Baca *et al*, 1970b). Existe la

presencia de folículos en crecimiento y maduros que acompañan al cuerpo lúteo por un tiempo no menor de 10 días (Fuertes, 1961). En animales no preñados la vida del cuerpo lúteo fue estimado entre 8 y 9 días post empadre (Aba *et al*, 1995).

Estudios macroscópicos del ovario en alpacas muestran que el diámetro promedio del cuerpo lúteo a los 3 días post servicio o 4 post ovulación es de 7.72 mm para el lado izquierdo y 8.67 mm para el derecho (Fernández Baca *et al*, 1970b).

2.5.2 Cuerpo lúteo en llamas

En llamas mediante el uso de la ultrasonografía se observó que el cuerpo lúteo alcanza su máximo diámetro en los días 5.9 (13mm) y 21.4 (16mm) post ovulación en no preñadas y preñadas, respectivamente habiendo en ambas una caída de progesterona en el día 8 post ovulación que se recupera después del día 10 en preñadas (Adams *et al*, 1991). Además, en llamas y alpacas preñadas existe una disminución transitoria en las concentraciones de P4 entre los días 8 y 18 post ovulación (Aba *et al*, 1995). En llamas se detectó el cuerpo lúteo el día 3.1 ± 0.2 post ovulación para hembras preñadas y no preñadas, alcanzando su máximo diámetro (12.8 ± 0.3 y 16.3 ± 0.3 mm respectivamente) el día 5.9 ± 0.3 y 21.4 ± 1.2 respectivamente (Adams *et al*, 1991).

En llamas que ovulan sin quedar preñadas, el cuerpo lúteo alcanzó su mayor tamaño a los 5.9 días (12.8 mm), empezando a regresionar a partir del día 9 post ovulación (Adams *et al*, 1991). Adams *et al* (1989) observaron mediante ultrasonografía que el cuerpo lúteo maduro tiene en promedio entre 11-13 mm, presentando un área hiperecogénica con un área horizontal central ecogénica.

2.5.3 Niveles de progesterona

Adams *et al* (1991) hallaron niveles de progesterona de 5.6ng/ml para el día 6, 3.1 ng/ml para el día 10 y 6.3 ng/ml para el día 12, en llamas preñadas, y que en hembras no

preñadas las concentraciones de progesterona circulantes decrecieron de 1 a 3 días antes de la disminución morfológica del cuerpo lúteo.

Bravo *et al* (1991) determinaron que existe una relación positiva entre el tamaño del cuerpo lúteo y las concentraciones de glucorónido de pregnanediol en orina de alpacas y llamas, las cuáles se incrementaron dentro de los 3 días siguientes a la ovulación. Así mismo, observaron un desarrollo del cuerpo lúteo más rápido en llamas que en alpacas, durante el desarrollo temprano.

En llamas se ha detectado el cuerpo lúteo aproximadamente en el día 3, en hembras que ovularon indistintamente de sí estuvieron preñadas o no. El máximo diámetro del cuerpo lúteo fue de 12.8 mm y 16.3 mm para llamas preñadas y no preñadas respectivamente (Adams *et al*, 1991). Después de un empadre estéril, las concentraciones de progesterona en sangre incrementaron desde el día 5, alcanzando la máxima concentración entre los días 7 y 8 y declinó rápidamente entre los días 9 y 10 (Sumar, 1999).

El cuerpo lúteo se mantiene por lo menos 10 días después de la ovulación en llamas vacías (Adams *et al*, 1990). Mientras que, el cuerpo lúteo de la preñez se mantiene sobre los 10 mm luego del día 4 alcanzando su mayor diámetro a los 21.4 días con 16.3 mm. En llamas vacías no apareadas no se detecta el cuerpo lúteo (Adams *et al*, 1991).

En alpacas y llamas no preñadas, un incremento de la secreción de prostaglandina F2 α se observó desde el día 9 al 12 post cópula, alcanzando picos de valor alto. En llamas, la concentración de prostaglandina F2 α para el día 10 del empadre es de 3.8 nmol/l declinando a 1.1 nmol/l para el día 12 post empadre (Aba *et al*, 2000). Mientras que, en animales preñados el incremento fue lento, pero el día 24 alcanzó valores considerablemente altos comparados con los registrados en el día 4 (Aba *et al*, 1995; Aba *et al*, 2000). Leyva y García (1999b) encontraron que la prostaglandina exógena afecta la vida del cuerpo lúteo cuando se administra después del día 4 de la fase luteal inducida, sugiriendo que la prostaglandina F2 α es el agente luteolítico en camélidos.

La luteólisis durante la fase luteal inducida en llamas por inyección intramuscular de hormona hCG o por apareamiento estéril (macho vasectomizado) y en alpacas, ocurre en los días 9 y 12 post ovulación (Adams *et al*, 1991) y post empadre (Fernández Baca *et al*, 1970b) respectivamente. En otros rumiantes el proceso de luteólisis es el resultado de la estimulación mutua entre la oxitocina luteal y la prostaglandina F2 alfa secretada por el endometrio uterino. De esta manera, los niveles de progesterona declinan conjuntamente con su efecto inhibitorio sobre el hipotálamo y la hipófisis permitiendo el resurgimiento de la LH para iniciar un nuevo ciclo (Stevenson, 1997).

2.6. GESTACIÓN

En alpacas, después de la cópula, los espermatozoides permanecen en los cuernos uterinos las primeras 12 horas, luego más del 90% avanzan hacia los oviductos, específicamente a la unión úterotubal y el istmo, sitio de la fertilización, siendo la concentración máxima a las 18 horas. El desarrollo embrionario en la alpaca es similar al de otras especies. El estadio de mórula de 4 a 6 blastómeros se observa en el oviducto alrededor del día 4 post cópula, como mórula compacta de gran número de blastómeros por el día 7 y en el útero como estadio de blastocisto por el día 10 (Bravo *et al*, 1996a).

La duración de la gestación varía de 335 a 360 días en llamas y 343 y 346 días en alpacas Huacaya y Suri. (Novoa *et al*, 1996), presentándose la mayor parte de las gestaciones con un sólo feto ubicado en el cuerno uterino izquierdo (Fernández-Baca *et al*, 1973). Siendo el cuerpo lúteo necesario para la conservación de la preñez durante todo el período de gestación en alpacas y llamas, existiendo una relación entre el diámetro del cuerpo lúteo y la concentración de progesterona en plasma (Sumar, 2002).

Se ha observado en las gestantes el aumento detectable de progesterona en sangre a los 3-4 días post cópula, luego la concentración disminuye entre los días 8 y 10 en la llamas (Adams *et al*, 1991), mientras que en alpacas se produce entre los días 8 y 11, habiendo una reducción transitoria en el diámetro del cuerpo lúteo, que luego se recupera

debido al reconocimiento maternal de la preñez, permaneciendo las concentraciones de progesterona elevadas en plasma hasta cerca de 2 semanas antes del parto, cuando empiezan a descender (Novoa y Leyva, 1996; Sumar, 2002).

2.6.1 Implantación y placentación

La implantación en camélidos sudamericanos parece ocurrir dentro de los primeros 21 días que siguen al servicio fértil, dado que después de esta etapa se puede encontrar unión definitiva entre membranas fetales y maternas (Fernández Baca *et al*, 1971). Olivera *et al* (2003) señalan en alpacas, que el día 15 el blastocisto se encuentra libre en el lumen uterino, observándose los días 22 y 26 de gestación al trofoblasto con áreas de contacto y adhesión por complejos de interdigitación a la superficie uterina. Posteriormente, el día 30 el trofoblasto está rodeado por tejido conectivo extraembrionario, el cual al día 45 se encuentra bien vascularizado, indicando la formación placentaria. Los camélidos presentan la placenta difusa epiteliocorial, tal como los porcinos y equinos (Skidmore, 2005).

En camélidos, se observó que la implantación del embrión ocurre casi en su totalidad en el cuerno uterino izquierdo, a pesar de no existir diferencia en la actividad ovulatoria entre ambos ovarios, lo que indicaría que los embriones que se originan en el cuerno uterino derecho tienen que migrar al lado izquierdo para su implantación (Fernández Baca *et al*, 1973). Fernández Baca *et al* (1975) mencionan que en ausencia del cuerno uterino izquierdo, el derecho ofrece condiciones igualmente favorables para la sobrevivencia del embrión.

Si bien no se conoce exactamente las razones de la migración, una explicación al respecto estaría en la actividad luteolítica diferencial de ambos cuernos uterinos al ser solo local en el cuerno derecho y además sistémica en el izquierdo (Fernández Baca *et al*, 1979) por lo cual, el embrión al implantarse en el cuerno izquierdo contrarrestaría su acción luteolítica (Fernández Baca, 1993).

2.6.2 Reconocimiento maternal de la preñez

En camélidos sudamericanos se ha encontrado que el efecto luteolítico de la prostaglandina liberada del cuerno uterino derecho es solo local, mientras que la liberación en el cuerno uterino izquierdo tiene efectos local y sistémico (Fernández Baca *et al*, 1979). En animales preñados la concentración de progesterona permanece elevada durante toda la gestación, aunque se produce un descenso entre los días 8 y 10, y nuevamente se recupera entre los días 18 y 28 en llamas y entre los días 11 y 13 en alpacas (Fernández Baca *et al*, 1970a; Adams *et al*, 1991). Esta recuperación en los niveles de progesterona y tamaño del cuerpo lúteo sugiere que existe una señal producida por el blastocisto que es responsable del reconocimiento maternal de la preñez.

El embrión de ovejas secreta una proteína trofoblástica oTP-1 que inhibe la producción uterina de cantidades luteolíticas de PGF2 α producida en respuesta al estradiol y oxitocina. Esta proteína es secretada entre los días 10 y 21 de la gestación (Bazer *et al*, 1989). Asimismo, el embrión del cerdo secreta estrógenos entre los días 10 y 16 de la gestación (Bazer *et al*, 1986) los cuales son esenciales para el establecimiento de la preñez, los estrógenos alteran la secreción de prostaglandina de una dirección endocrina (hacia la vasculatura uterina) a una dirección exocrina (hacia el lumen uterino) impidiendo el efecto luteolítico de esta (Bazer *et al*, 1986; Bazer *et al*, 1989).

Geisert *et al* (1992) señalan que una disminución en los receptores de progesterona en el epitelio uterino de vacas, pueden estimular las secreciones uterinas que regulan el crecimiento del concepto y la liberación de proteína trofoblástica bTP-1 necesaria para inhibir la liberación de PGF2 α endometrial.

Por otro lado, Skidmore *et al* (1994) no detectaron alguna sustancia similar a los interferones del trofoblasto de los ovinos y bovinos en los embriones de camellos incubados desde los días 10 a 33 post ovulación, pero observaron una habilidad considerable de aromatización de las membranas extraembrionarias a los 10 días post

ovulación, sugiriendo que los estrógenos provocan la señal para el mantenimiento de la función luteal.

2.6.3 Mortalidad embrionaria

La mortalidad embrionaria es un factor que reduce la eficiencia reproductiva en muchas especies domésticas, siendo esta pérdida embrionaria más alta en los camélidos sudamericanos (Fernández Baca *et al*, 1970a)

En alpacas, se ha determinado que los índices de fertilización son mayores al 80% en el día 3 post servicio y de 35% en los días 21 a 31 de gestación, esto demuestra que existe una pérdida embrionaria aproximada del 50% en los 30 primeros días de la gestación. (Fernández Baca *et al*, 1970a; Fernández Baca *et al*, 1971).

Los factores causantes de la alta tasa de pérdida embrionaria no son bien conocidos. Sin embargo, la restricción alimenticia, desbalances hormonales, factores inmunológicos, ambiente externo, entre otras, pueden ser los factores mas importantes, sin encontrar una forma de infección del aparato reproductor (Sumar 1983 citado por Sumar 1997). Se ha demostrado que la capacidad reproductiva de las hembras que fallaron previamente en producir un feto viable no están totalmente impedidas de que queden preñadas y llegan a termino si son servidas nuevamente (Novoa, 1970).

Por otro lado, Cervantes (2004) señaló que el estadio del desarrollo folicular (crecimiento, estática o regresión) parece no tener influencia sobre la mortalidad embrionaria en alpacas. Asimismo, Leyva y García (1999a) sugieren que existe mejor efecto al administrar GnRH al día 5 post servicio sobre la sobrevivencia embrionaria en alpacas, coincidiendo con Araínga (2002), quien señaló que al aplicar GnRH en alpacas en el día 4 post ovulación, mejora la tasa de sobrevivencia embrionaria (debido a su efecto luteotrópico), mientras que si se aplica esta hormona durante los días 8 y 9 post ovulación esta tasa disminuye.

2.7 DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN EN CAMÉLIDOS

Existen diversos métodos de diagnóstico de gestación en camélidos sudamericanos. Es así, que el método de palpación rectal considera como preñada a aquellas alpacas en las cuales se determinó la presencia del feto por palpación directa o balotaje del cuerno uterino grávido (Calderón, 1968). Por otro lado, el comportamiento sexual de la hembra frente al macho es una técnica para el diagnóstico temprano de preñez en camélidos (Fernández Baca *et al*, 1970, citado por Fernández Baca, 1993).

La ultrasonografía es utilizada en el diagnóstico temprano de preñez en el ganado vacuno, en la yegua (Adams *et al*, 2000) y ovejas (Saelzer *et al*, 1989). Asimismo, la ultrasonografía diagnosticó la gestación precozmente en alpacas y llamas y con mayor eficiencia que los métodos tradicionales (Raggi *et al*, 1996).

Para el diagnóstico temprano de preñez en llamas y alpacas preñadas también se han utilizado las determinaciones de las concentraciones de la hormona progesterona, la cual incrementa a partir del día 4 post apareamiento (Aba *et al*, 1995; Aba *et al*, 1997). Bravo *et al* (1996b) en un estudio reportan que las concentraciones de relaxina son un indicador de preñez a partir del segundo mes de gestación en alpacas y llamas.

Bravo *et al* (2000) demostraron la detección de la vesícula embrionaria el día 12 después de la cópula. Asimismo, los embriones fueron detectados el día 22 post cópula en alpacas. El diagnóstico de gestación por ultrasonografía puede llevarse con seguridad los días 23 y 24 en alpacas y llamas respectivamente (Parraguez *et al*, 1996). Sin embargo, Adams *et al* (1989) indican que la preñez fue detectada en llamas el día 11 post empadre y todas las vesículas fueron localizadas en el cuerno uterino izquierdo. Además, la preñez en llamas puede ser diagnosticada tan temprano como a los 19 días después del apareamiento (Bourke *et al*, 1992).

2.8 SINCRONIZACIÓN HORMONAL DE LA ONDA FOLICULAR.

La sincronización de la emergencia de la nueva onda folicular es el resultado de la sincronización del desarrollo folicular (Martínez, *et al* 2000), este desarrollo de la onda folicular puede ser controlado mecánicamente por ablación folicular guiada por ultrasonido, también con tratamientos hormonales utilizando GnRH o estradiol y estradiol combinada con progesterona. El control del desarrollo folicular facilita la aplicación de tecnología reproductiva asistida por ofrecer la posibilidad de planificar la superestimulación folicular de hembras donadoras y la sincronización de receptoras a tiempo fijo sin la necesidad de detectar el celo en el caso de vacas (Bó *et al*, 2002). Existen programas de sincronización utilizando hormonas como la GnRH, FSH, LH, eCG, hCG (De Renis y Lopez-Gatius, 2007, Falk Scheneider *et al*, 2006). En cerdas, se ha empleado el agonista deGnRH (goserelin) para estimular la oleada de LH con la subsecuente ovulación en la sincronización del estro, pudiendo ser utilizados en programas de inseminación artificial a tiempo fijo (Brussow *et al*, 2007).

La GnRH o el estradiol utilizadas para la sincronización de la emergencia de la onda folicular ovárica y la ovulación en un programa de sincronización del celo utilizando MGA (acetato de melengestrol) mostró una aceptable tasa de preñez en un programa de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado vacuno de carne (Martinez *et al*, 2001).

El folículo dominante ejerce un efecto inhibitorio que lleva al resto de los folículos del mismo grupo (subordinados) a detener su crecimiento y atresarse. Entre 1 y 4 días de comenzada la regresión del folículo dominante emerge la onda siguiente. (Adams *et al*, 1990 y Bravo *et al*, 1990b).

En camélidos sudamericanos se han utilizado tratamientos hormonales para inducir la ovulación y superestimular el desarrollo folicular con GnRH y LH (Bravo *et al*, 1992; Aller *et al*, 1999; Huanca *et al*, 2001; Ratto *et al*, 2006).

Los tratamientos hormonales para controlar la emergencia de la onda folicular en el ganado incluyen la utilización de hormonas GnRH (Macmillan *et al*, 1991; Pursley *et al*, 1997; Martínez *et al*, 1999). La sincronización de las ondas foliculares empleando GnRH en el ganado vacuno, en diferentes etapas de su ciclo estral, ocasionó la desaparición de un folículo grande promoviéndole incremento en el número de folículos reclutables, luego la emergencia de una nueva onda folicular después de los 3 a 4 días del tratamiento (Kohram *et al*, 1997). Asimismo, el tratamiento con GnRH puede ser utilizado en búfalos para sincronizar la emergencia de una nueva onda folicular, teniendo esta característica de desarrollo similar a las del grupo que no fue tratado con la hormona. En este sentido, una onda folicular fue definida como la sincronización del desarrollo de un grupo de folículos de 4 a 6 mm de diámetro los cuales fueron seguidos por la selección y el crecimiento de un folículo dominante. (Kohram *et al*, 2000). Además, se ha utilizado la buserelina en los tratamientos de sincronización de la emergencia de la onda folicular al inducir la ovulación o luteinización del folículo dominante y eliminar la supresión ejercida por el mismo (Kohram, *et al*, 1998).

Las inyecciones de GnRH durante el ciclo estral en el ganado vacuno sincronizan el desarrollo folicular para la ovulación o luteinización del folículo dominante para el reclutamiento y selección de un nuevo folículo dominante (Thatcher *et al*, 1993). En yeguas, las inyecciones diarias de GnRH inducen el desarrollo de folículos preovulatorios en un régimen efectivo para la inducción de una oleada de LH y ovulación (Turner *et al*, 1991, McCue *et al*, 1991)

Por otro lado, se han empleado otros métodos de sincronización de la onda folicular en camélidos, es así que la sincronización de la onda folicular empleando dosis inyectables de progesterona y benzoato de estradiol se realizó en llamas para iniciar tratamientos superestimuladores en ausencia del folículo dominante (Carretero *et al*, 2006). Además, la progesterona exógena ejerce un efecto inhibitorio en el desarrollo de los folículos subordinados y en el folículo dominante, desapareciendo este efecto después de suspenderse el tratamiento (Santiani *et al*, 2001). Asimismo, en alpacas la progesterona

exógena inhibe el desarrollo de los folículos pequeños y detiene el crecimiento folicular (Bravo *et al*, 2003).

Aba *et al* (2005) evaluaron el efecto de la progesterona exógena sobre la dinámica folicular en vicuñas para determinar su habilidad en la sincronización de la actividad ovárica. Por otro lado, un análogo de GnRH (buserelina) se utilizó para sincronizar la emergencia de la onda folicular en llamas en distintos momentos de la dinámica folicular (Ferrer *et al*, 2002). Asimismo, los tratamientos para la sincronización de la onda folicular en llamas empleando estradiol, progesterona, LH y la ablación folicular permiten la inducción de la sincronización de la onda folicular (Ratto *et al*, 2003).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN

El presente estudio se realizó en la Estación Experimental Quimsachata, perteneciente al Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria (INIEA) ubicada entre los distritos de Cabanillas y Santa Lucía de las provincias de San Román y Lampa a 4300 msnm; 15° latitud sur y 71° longitud oeste, en el departamento de Puno. Región natural del altiplano, zona agroecológica de Puna Seca. El presente estudio se llevo a cabo entre los meses de Enero a Marzo de 2006.

3.2 ANIMALES

Se utilizaron 120 animales de los cuales 60 hembras fueron alpacas entre Huacaya y Suri y 60 llamas entre K'ara y Chak'u adultas (> 3 años de edad) entre animales sin cría y animales con cría con descanso previo de 20 días, de los cuales en alpacas la mayoría de animales tenían cría mientras que en llamas la mayoría se encontraban sin cría. Estos animales contaron con historial reproductivo de haber tenido al menos un parto previo. Además, recibieron las mismas condiciones de manejo, separadas de los machos y alimentadas con pasturas naturales.

3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

Las alpacas y llamas fueron evaluadas mediante ultrasonografía transrectal antes de seleccionarlas para formar los grupos experimentales. Los animales con un folículo ≥ 7 mm de diámetro evaluados por tres días consecutivos fueron asignados aleatoriamente en los siguientes grupos de tratamiento:

- Grupo Control (20 alpacas y 20 llamas): 1ml de suero fisiológico, vía intramuscular.
- Grupo GnRH (20 alpacas y 20 llamas): 1ml de GnRH* (0.004 mg de acetato de buserelina), vía intramuscular.
- Grupo LH (20 alpacas y 20 llamas): 1ml de LH** (equivalente a 5mg de hormona luteinizante porcina), vía intramuscular

La determinación de las dosis de GnRH y LH se sustentó en estudios realizados por Huanca *et al* (2001) y Ratto *et al* (2006) respectivamente.

Los animales fueron identificados con collares numerados y de colores según el grupo experimental al que correspondían.

*Conceptal®, Intervet.

**Lutropin-v®, Bioniche Animal Health, Canadá.

3.4 PROCEDIMIENTO METODOLÓGICO:

3.4.1 Sincronización de la onda folicular

Se realizaron observaciones ecográficas desde tres días antes de la selección de los animales y de la aplicación de los tratamientos (Día 0) cada 24 horas. Las alpacas y llamas hembras fueron evaluadas mediante ultrasonografía transrectal. Para ello, se utilizó un ecógrafo modelo Aloka SSD 500 con transductor lineal de 7.5 MHz de frecuencia, seleccionando 60 alpacas y 60 llamas que presentaron folículos con tamaño ≥ 7 mm de diámetro.

Posteriormente, fueron distribuidas al azar a cada uno de los grupos (Control, GnRH y LH) donde se les aplicó su respectivo tratamiento. Los tratamientos hormonales se aplicaron para inducir la ovulación eliminando el efecto inhibitorio del folículo dominante sobre el crecimiento folicular, permitiendo la emergencia de una nueva onda folicular sincronizada y el desarrollo de un nuevo folículo dominante. Todas las alpacas y llamas seleccionadas fueron evaluadas diariamente empleando ultrasonografía transrectal a partir del tercer día post tratamiento, a fin de verificar si se produjo la ovulación, la cual fue determinada sobre la base de la desaparición del folículo preovulatorio previamente registrado. Los exámenes ecográficos se realizaron en animales adultos con un adecuado tamaño corporal que permitieron el examen transrectal. Por otro lado, los exámenes ecográficos fueron ejecutados de manera diaria, en las mañanas (6:00 a.m). Desde un inicio, los animales de presente estudio fueron evaluados para ir formando los grupos experimentales, ingresando grupos pequeños (aproximadamente 20 animales), con la finalidad de poder realizar correctamente las evaluaciones ecográficas diarias. Durante todo el tiempo del experimento, cada animal fue evaluado considerando cada uno de los pasos establecidos en el diseño experimental.

En cada grupo de estudio, se midió el diámetro de los folículos (la imagen ecográfica de los folículos correspondió a estructuras no ecogénicas) siendo registradas gráficamente en fichas independientes las estructuras ováricas observadas (Anexo 8), para determinar

la presencia de un folículo dominante con tamaño mayor o igual a 7 mm de diámetro y la emergencia de la nueva onda folicular la cual fue definida cuando el folículo dominante presentó, retrospectivamente, un diámetro ≥ 4 mm (Adams *et al* 1990; Ratto *et al* 2003). Aquellas hembras con diámetro folicular ≥ 7 mm, el día 12 post aplicación de los tratamientos fueron sometidas a empadre controlado exponiendo a las hembras con un macho con similares características para que sea servida, registrándose el tiempo de inicio y término de cópula así como las características de los animales para llevar el control de paternidad. La duración de la monta fue ≥ 15 minutos. A las 48 horas post empadre se realizó la evaluación ecográfica para verificar la desaparición del folículo dominante.

3.4.2 Determinación de la tasa de preñez

El día 35 post empadre de cada animal, se realizó el diagnóstico de preñez debido a que los primeros 30 días existe una alta tasa de mortalidad embrionaria $> 50\%$ (Fernández Baca *et al*, 1970a). La ultrasonografía transrectal en alpacas y llamas se realizó con un ecógrafo portátil Aloka SSD 500 con transductor lineal de 7.5 MHz de frecuencia, para la determinación de la preñez mediante la observación y detección del latido cardíaco del embrión.

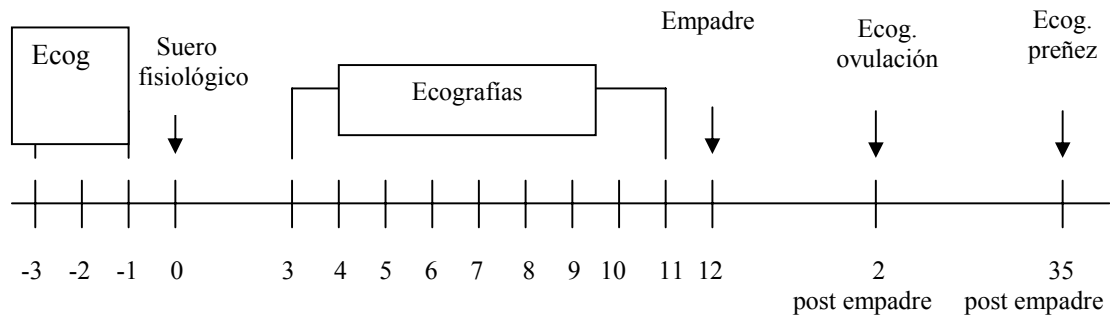
3.5 ANÁLISIS DE LOS DATOS

Para los análisis estadísticos de los resultados del presente trabajo se utilizó el paquete estadístico STATA 9.2 (Stadistic Data Analisis 2007) con la finalidad de analizar las diferencias entre los grupos de tratamiento con respecto al grupo control para el intervalo en días desde el tratamiento a la emergencia de la onda folicular, el día que alcanza el tamaño preovulatorio ≥ 7 mm y el tamaño folicular antes del empadre en alpacas y llamas mediante una prueba de análisis de varianza (ANOVA). Cuando se observó diferencia significativa ($p < 0.05$), se utilizó la prueba de Bonferroni para establecer diferencias entre grupos. La tasa de ovulación post tratamiento, tasa de ovulación post empadre y la tasa de preñez, fueron analizadas por la prueba de Chi cuadrado (χ^2).

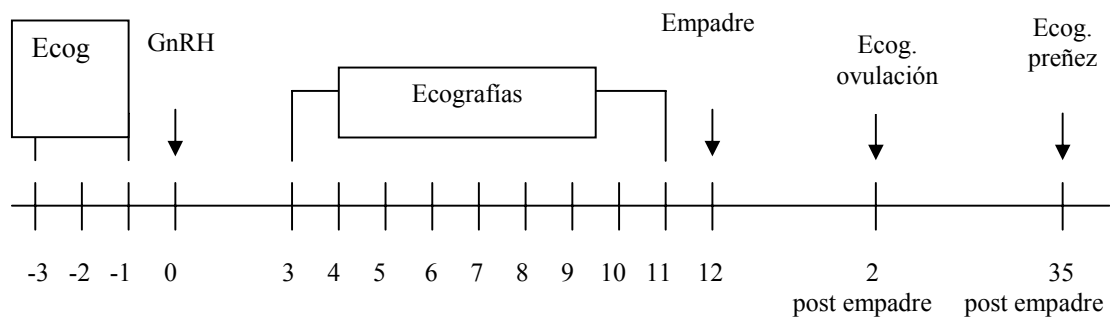
Fig. 1. Diseño Experimental

ALPACAS Y LLAMAS

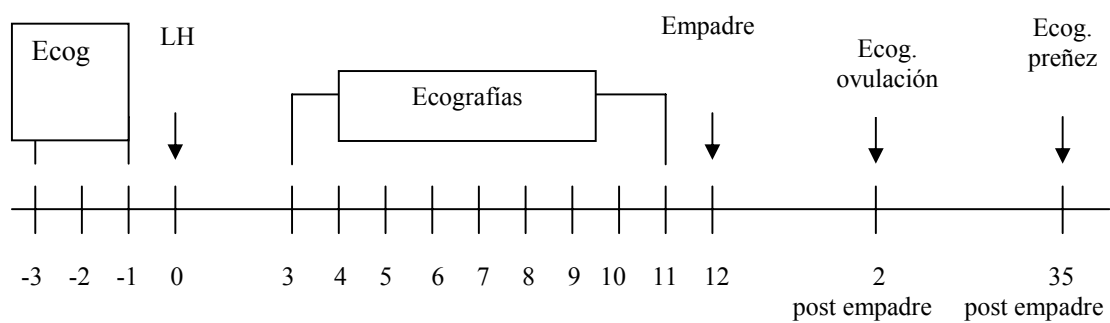
Grupo 1: Control (n=20)



Grupo 2: GnRH (n=20)



Grupo 3: LH (n=20)



IV. RESULTADOS

4.1 Intervalo en días desde los tratamientos Control, GnRH y LH hasta la emergencia de la onda folicular en alpacas y llamas.

El cuadro 1 muestra el intervalo en días, desde la aplicación de los tratamientos hasta la emergencia de la nueva onda folicular, donde se consideraron aquellos animales que presentaron folículos ≥ 4 mm correspondientes a la nueva onda folicular. En este estudio ingresaron aquellas hembras que ovularon al tratamiento (GnRH= 18 y 18, para LH= 14 y 18 en alpacas y llamas respectivamente) y en el grupo control aquellas hembras que no ovularon (19 alpacas y 17 llamas), en alpacas de este grupo no se presentó la emergencia folicular en 5 animales, los cuales fueron excluidos. El día de la emergencia de la onda folicular en alpacas del grupo control fue de $4,5 \pm 1,2$ días, en el grupo GnRH de $4,3 \pm 1,4$ días y en el grupo LH de $4,5 \pm 1,2$ días. Mientras que en llamas, la emergencia folicular fue a los $4,7 \pm 1,2$, $4,6 \pm 1,2$, $4,0 \pm 1,2$ días en los grupos Control, GnRH y LH respectivamente, no presentándose diferencias ($p > 0.05$) entre los grupos (Anexo 7).

Cuadro 1. Intervalo desde los tratamientos hasta la emergencia folicular en grupos Control, GnRH y LH en alpacas y llamas.

Grupos	Control		GnRH		LH	
	días	n	días	n	días	n
Alpacas	$4,5 \pm 1,2^a$	14	$4,3 \pm 1,4^a$	18	$4,5 \pm 1,2^a$	14
Llamas	$4,7 \pm 1,2^a$	17	$4,6 \pm 1,2^a$	18	$4,0 \pm 1,2^a$	18

Letras distintas en la misma fila indican diferencia ($p < 0.05$).
n: número de animales.

4.2. Intervalo en grupos Control, GnRH y LH desde el tratamiento hasta el día que el folículo alcanzó el tamaño preovulatorio.

El intervalo en días desde la aplicación de los tratamientos hasta el día en que el folículo dominante de la onda folicular alcanzó el tamaño preovulatorio ($\geq 7\text{mm}$) no muestra diferencias ($p > 0.05$) en alpacas entre los tres grupos de tratamientos, Control: 8.4 ± 1.9 , GnRH: 9.0 ± 1.6 y LH: 7.9 ± 2.0 . (Cuadro 2). Por otro lado, el tiempo en la presentación del folículo preovulatorio en llamas fue mayor en el grupo control (9.5 ± 0.9) que en los grupos GnRH (7.9 ± 1.6) y LH (6.8 ± 1.6) (Cuadro 2), mostrando diferencias ($p < 0.05$) (Anexo 7.2).

Cuadro 2. Intervalo desde el tratamiento hasta el día que el folículo alcanzó el tamaño preovulatorio en Grupos Control, GnRH y LH en alpacas y llamas.

Grupos	Control		GnRH		LH	
	días	n	días	n	días	n
Alpacas	8.4 ± 1.9^a	14	9.0 ± 1.6^a	18	7.9 ± 2.0^a	14
Llamas	9.5 ± 0.9^a	17	7.9 ± 1.6^b	18	6.8 ± 1.6^b	18

*Letras distintas en la misma fila indican diferencia ($p < 0.05$).
n: número de animales

4.3. Tamaño folicular antes del empadre en alpacas y llamas de los grupos Control, GnRH y LH .

En el cuadro 3 en alpacas, el tamaño folicular un día antes del empadre mostró diferencias ($p < 0.05$) entre los grupos de tratamiento: Control (7.2 ± 1.3 mm), GnRH (6.8 ± 1.4 mm) y LH (8.9 ± 1.9 mm). Asimismo, en llamas se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos GnRH (8.5 ± 0.6 mm) y LH (10.4 ± 3.6 mm) con respecto al grupo control (6.4 ± 1.3 mm) (Anexo 7.3).

Cuadro 3. Tamaño folicular un día antes del empadre (día 11 post tratamientos) en grupos Control, GnRH y LH en alpacas y llamas.

Grupos	Control		GnRH		LH	
	mm	n	mm	n	mm	n
Alpacas	7.2 ± 1.3 ^a	14	6.8 ± 1.4 ^a	18	8.9 ± 1.9 ^b	14
Llamas	6.4 ± 1.3 ^a	17	8.5 ± 0.6 ^b	18	10.4 ± 3.6 ^c	18

*Letras distintas en la misma fila indican diferencia ($p < 0.05$)
mm: promedio en milímetros del tamaño folicular.
n: número de animales.

4.4 Tasa de ovulación post tratamiento y post empadre en alpacas y llamas.

En el cuadro 4 se observó en las alpacas que recibieron tratamiento hormonal para la sincronización de la onda folicular tasas de ovulación de 90 y 70% en los grupos GnRH y LH respectivamente, encontrando diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al grupo Control (Anexo 1). Por otro lado, las tasas de ovulación post empadre fueron de 94.4 % (GnRH) y 85.7 % (LH), no presentando diferencias significativas con el grupo control ($p > 0.05$) (Anexo 2). Para determinar la tasa de ovulación post tratamientos en alpacas y llamas se consideraron inicialmente 20 animales por grupo, y para la determinación de la tasa de ovulación post empadre fueron excluidos del análisis aquellos animales que no se les detectó el desarrollo de un folículo preovulatorio durante el periodo de observación. Además, en el grupo control se excluyó al animal que ovuló al tratamiento y aquellos que no presentaron emergencia de una nueva onda folicular.

Cuadro 4. Tasas de ovulación post tratamientos (Control, GnRH y LH) y tasa de ovulación post empadre en alpacas.

Grupos	Control		GnRH		LH	
	t.o	n	t.o	n	t.o	n
alpacas post tratamiento de sincronización	5%	1/20	90%	18/20	70%	14/20
alpacas post empadre	85.7%	12/14	94.4%	17/18	85.7%	12/14

t.o: Tasa de ovulación.
n: número de animales.

En llamas la tasa de ovulación al tratamiento hormonal para la sincronización de la onda folicular fue similar entre los grupos GnRH y LH mostrando una tasa de ovulación de 90% en ambos grupos. Asimismo, el grupo control registró un menor número de llamas que ovularon (Cuadro.5) donde se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos GnRH y LH con respecto al control (Anexo 1). Además, las tasas de ovulación post empadre fueron de 64.7% (Control), 88.9% (GnRH) y 77.8% (LH) no encontrándose diferencias ($p > 0.05$) (Cuadro 5) (Anexo 2).

Cuadro 5. Tasas de ovulación post tratamiento (Control, GnRH y LH) y tasa de ovulación post empadre en llamas.

Grupos	Control		GnRH		LH	
	t.o	n	t.o	n	t.o	n
Llamas post tratamiento de sincronización	15%	3/20	90%	18/20	90%	18/20
Llamas post empadre	64.7%	11/17	88.9%	16/18	77.8%	14/18

t.o; Tasa de ovulación.
n: número de animales.

4.5 . Tasa de Preñez

En el cuadro 6 se observa que las tasas de preñez a los 35 días post empadre en alpacas fueron de 78.6%, 77.8% y 64.3% para los grupos Control, GnRH y LH respectivamente, no encontrándose diferencias significativas ($p > 0.05$) de los tratamientos con respecto al control (Anexo 3). Asimismo, en llamas las tasas de preñez fueron más altas en los Grupos GnRH (66.7%) y LH (72.2%) mientras que en el grupo control fue de 47.1%. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) (Anexo 3). Para la determinación de la tasa de preñez en alpacas y llamas se consideraron aquellas hembras receptivas con folículo ≥ 7 mm. Además, en el cuadro 6 se muestran las tasas de preñez de acuerdo al número de

animales con los que se inicio el estudio en cada grupo (n=20), no encontrando diferencias entre los grupos Control, GnRH y LH ($p>0.05$) (Anexo 3.1).

Cuadro 6. Tasa de preñez en alpacas y llamas 35 días post empadre.

Grupos	Control		GnRH		LH	
	t.p	n	t.p	n	t.p	n
Alpacas	78.6%	11/14	77.8%	14/18	64.3%	9/14
	55%	11/20	70%	14/20	45%	9/20
Llamas	47.1%	8/17	66.7%	12/18	72.2%	13/18
	40%	8/20	60%	12/20	65%	13/20

t.p: tasa de preñez a los 35 días post empadre.

n: número de animales preñados sobre el numero de animales empadrados.

V. DISCUSIÓN

El día de la emergencia folicular se consideró como el día que el folículo de la nueva onda folicular alcanzó un tamaño de ≥ 4 mm, basado en los trabajos realizados por Adams *et al* (1990) y Ratto *et al* (2003). En el presente trabajo el día de la emergencia de la onda folicular fue detectado retrospectivamente; es decir, desde el momento que se registró el folículo ≥ 7 mm al momento en que, anteriormente, presentó un tamaño de ≥ 4 mm. En este sentido, la emergencia de la nueva onda folicular en alpacas y llamas no presentó diferencias entre los grupos GnRH y LH, lo cual podría atribuirse al similar intervalo que existe desde la aplicación de estas hormonas hasta la ovulación, tal como lo demostraron Huanca *et al* (2001) y Ratto *et al* (2006) en llamas. En este contexto, los camélidos exhiben un similar modelo de onda folicular a otras especies y similares características como el reclutamiento, selección y dominancia durante el desarrollo folicular (Adams, 2001). Asimismo, como en otras especies, la FSH y LH juegan roles importantes en el reclutamiento y dominancia, respectivamente. La detección inicial de folículos emergentes dentro de una onda ocurre durante el declive en la oleada de FSH. El descenso en la circulación de la FSH es el resultado de un mecanismo de retroalimentación negativa de los folículos emergentes, (Adams, 2001).

La emergencia folicular en los grupos control del presente estudio fue de 4.5 ± 1.2 días en alpacas y 4.7 ± 1.2 días en llamas, lo cual es similar al grupo control del trabajo realizado por Ratto *et al* (2003) y Adams *et al* (1990) en llamas. La similitud en el tiempo de emergencia folicular entre grupos GnRH, LH y control en el presente trabajo

probablemente se debería a que la regresión del folículo ≥ 7 mm empezó después de la observación ecográfica realizada antes de la aplicación de suero fisiológico en los grupos control, lo cual permitiría el desarrollo del siguiente folículo dominante el cual empieza 2 ó 3 días después de iniciada la regresión folicular (Bravo *et al*, 1990a).

Ratto *et al* (2003) encontraron que el intervalo desde el tratamiento hasta la emergencia de la onda folicular en llamas tratadas con LH fue de 2.1 ± 0.3 días. Sin embargo, en el presente trabajo se registró un intervalo de 4.5 ± 1.2 días en alpacas y de 4.0 ± 1.2 días en llamas. Estos resultados difieren, probablemente porque la evaluación ecográfica en este trabajo fue realizada a partir del tercer día post tratamiento. Mientras que, Ratto *et al* (2003) realizaron las ecografías diariamente desde tres días antes de la aplicación de los tratamientos.

En alpacas, el intervalo desde el tratamiento hasta alcanzar el tamaño preovulatorio (≥ 7 mm) mostró similitud entre grupos Control: (8.4 ± 1.9 días), GnRH (9.0 ± 1.6 días) y LH (7.9 ± 2.0 días). Esta similitud probablemente se debería a que la mayoría de las alpacas del presente estudio se encontraban en estado lactacional (hembras con cría). Por otro lado, en llamas el intervalo fue mayor en el grupo Control (9.5 ± 0.9 días) existiendo diferencias con los grupos GnRH (7.9 ± 1.6 días) y LH (6.7 ± 1.6 días). Este comportamiento en llamas, probablemente se debería a que la mayoría de los animales del grupo Control estaban en estado lactacional, Mientras que, en los grupos con tratamiento hormonal la mayoría fueron animales sin cría. En este sentido, Adams *et al* (1991) señalaron que el crecimiento folicular es afectado por el estado lactacional de las llamas ya que demostraron, mediante evaluación ecográfica diaria, que el promedio del diámetro folicular fue más pequeño para llamas lactantes que para llamas no lactantes.

El intervalo desde el tratamiento hasta el día en el cual el folículo alcanzó el tamaño preovulatorio en alpacas y llamas en los grupos control y tratados con LH se asemeja a lo hallado por Ratto *et al* (2003). En ese sentido, Vaughan *et al* (2003) señalan que la mayoría de los folículos crecen o mantienen su tamaño 6 a 10 días después de la emergencia folicular. Además, en alpacas el crecimiento folicular para alcanzar el tamaño

ovulatorio (8 a 12mm) tiene un promedio de 4 días (rango de 2 a 8 días) (Bravo y Sumar, 1989; Bravo *et al*, 1990a).

Existe variabilidad en el desarrollo folicular entre llamas y alpacas presentando éstas una menor tasa de crecimiento folicular (Vaughan *et al*, 2003). Asimismo, Pérez (1996) en alpacas y Ferrer *et al* (2002) en llamas, observaron que los folículos alcanzaron tamaños mayores a 7 mm de diámetro al quinto y sétimo día post tratamiento con buserelina y gonadorelin respectivamente. Sin embargo, los resultados del presente estudio difieren a los encontrados por Pérez y Ferrer, posiblemente atribuido a la vía de administración endovenosa y la estimulación rápida del hipotálamo y de la pituitaria en esos trabajos. Por otro lado, Bourke *et al* (1995) registraron a los 7 días después de la administración intramuscular de buserelina en el 76% de llamas, folículos que alcanzaron tamaños entre 7 a 10 mm de diámetro, este resultado similar al encontrado en el presente estudio podría deberse a la misma vía de administración de la hormona.

En este estudio el tamaño folicular antes del empadre fue similar en los grupos GnRH y Control en alpacas, grupos conformados en su mayoría por animales con cría, mientras que en llamas los tres grupos mostraron diferencias significativas. Las llamas del grupo control presentaron un diámetro menor en relación con los grupos con tratamiento hormonal esto probablemente se deba a que en el grupo control la mayoría de animales se encontraba en estado lactacional. En este sentido, Adams *et al* (1991) señalan que el máximo diámetro alcanzado por los folículos dominantes de ondas anovulatorias fue más pequeño en llamas lactantes que en llamas no lactantes.

Entre los tres grupos experimentales en alpacas y llamas las tasas de ovulación post empadre registraron similitud, esto se debería probablemente a que el momento del empadre se realizó antes del día 8 después de la emergencia de la nueva onda folicular, periodo considerado como óptimo tal como lo afirman Adams *et al* (1989), Bravo *et al* (1991) y Vaughan *et al* (2003). En este trabajo se realizó el empadre a los 12 días post tratamientos, considerando que el cuerpo lúteo se encuentre en regresión en los grupos que recibieron hormonas, de esta manera los niveles de progesterona declinan,

disminuyendo su efecto inhibitorio sobre el crecimiento de folículos con tamaño ovulatorio (Adams *et al*, 1990; Bravo *et al*, 2003). Al respecto, Bravo *et al* (1992) indicaron que la descarga preovulatoria de la hormona LH es evidente después de la primera cópula, presentándose la ovulación en todos los animales que presentaron folículos entre 8-10 mm de tamaño. Por otro lado, Vaughan *et al* (2004) indicaron que un diámetro folicular de 6 - 7 mm es considerado adecuado para una ovulación fértil en alpacas. Además, las llamas con folículos mayores a 7 mm en fase de crecimiento o estática temprana ovulan en respuesta al servicio (Ferrer *et al*, 2002).

En el presente trabajo se observó que al inicio de la sincronización de la onda folicular ovárica, las alpacas y llamas respondieron similarmente a los tratamientos de inducción de la ovulación con GnRH exógena en un 90% en ambas especies. Sin embargo, en otros estudios realizados por Ratto *et al* (2006) y Ferrer *et al* (2002) quienes emplearon un análogo de GnRH (buserelina) registraron una tasa de ovulación del 80 y 75% de las llamas de los grupos experimentales. Asimismo, en un estudio realizado por Huanca *et al* (2001) observaron que en llamas tratadas con GnRH la tasa de ovulación fue de 81.82%, y Aller *et al* (1999) empleando GnRH indujeron la ovulación en el 79.1%. La confirmación ecográfica de la presencia y tamaño del cuerpo luteo a los 7 días post tratamientos en todos los animales podría generar una mayor confirmación en la tasa de ovulación en futuros trabajos de similar investigación.

En lo referido a este estudio, para sincronizar la onda folicular empleando la hormona exógena LH se obtuvieron porcentajes de ovulación de 70% en alpacas y 90 % en llamas. Estos resultados son similares a los encontrados en llamas por Ratto *et al* (2006) quienes reportaron un 91% después de la administración de LH. Asimismo, Huanca *et al* (2001) encontraron el 100 % de ovulación en el grupo de llamas tratadas con LH. Por otro lado, la administración de hormonas con acción de LH como la hormona hCG en llamas sexualmente maduras y alpacas provoca la ovulación tal como lo indican England *et al* (1969), San Martín *et al* (1968) y Rodríguez *et al* (1959). La tasa de ovulación en alpacas del grupo LH del presente estudio difieren con el trabajo realizado por Ríos (1989) quien

observó en alpacas una tasa de 100%, después de la administración por vía intramuscular de hCG.

La tasa de ovulación en los animales del grupo control fue del 5 % en alpacas y 15 % en llamas. Estos resultados se pueden atribuir a la presentación de la ovulación espontánea que se presenta en estos camélidos sudamericanos. Lo cual coincide con lo registrado en llamas por England *et al* (1969) y en alpacas por Fernández Baca *et al* (1970).

Los animales tratados con GnRH y LH, registraron una tasa de ovulación post empadre del 94.4% y 85.7% en alpacas y de 88.9% y 77.8% en llamas para cada tratamiento hormonal. En este sentido, las tasas de ovulación en el presente trabajo estarían influenciadas por el estadio de desarrollo del folículo dominante al momento del empadre, tal como lo indica Bravo *et al*, (1991) que hembras con folículos mayores a 7 mm liberan cantidades suficientes de LH hipofisiaria (55.1 a 62.4 ng/ml/h) suficientes para producir la ovulación y formación de un cuerpo lúteo normal y, en el caso de las hembras que tuvieron folículos en regresión superiores a 7 mm, a pesar de haber liberado cantidades suficientes de LH (63.7 ng/ml/h) los folículos fueron luteinizados en lugar de ovular y la estructura luteal que se formó tuvo una duración de 5.1 días. Por otro lado, la tasa de ovulación del grupo tratado con LH por Ratto *et al* (2003) fue de 90%, donde sugiere que los folículos en fases de crecimiento, estática o regresión fueron capaces de ovular. Además, Bravo *et al* (1991) determinó que las hembras que tenían folículos ≥ 7 mm al momento de la cópula liberaron LH, ovularon y desarrollaron cuerpo lúteo normal, considerando 7 mm como el tamaño ovulatorio mínimo para los folículos en llamas y alpacas, este tamaño está relacionado a la habilidad del animal para liberar cantidades ovulatorias de LH en respuesta al estímulo de la cópula.

El grupo control del presente estudio registró tasas de ovulación post empadre de 85.7% para alpacas y de 64.7 % para llamas, resultados que difieren a los hallados por Bravo *et al* (1992), quienes indican que la proporción en alpacas y llamas que ovularon después de la cópula fue del 100%. Asimismo, en un estudio Huanca *et al* (2001)

encontraron una respuesta del 80% de ovulación en un grupo de llamas que recibieron solo la monta natural como único estímulo. Los hallazgos encontrados se pueden atribuir a la evidente descarga preovulatoria de la hormona después de la primera cópula, presentándose la ovulación en todos los animales que presentaron folículos entre 8-10 mm de tamaño (Bravo *et al*, 1992). Por otro lado, la falla en la ovulación en camélidos puede ser debida a un inadecuado estímulo o falta de respuesta del SNC o simplemente a una disminuida sensibilidad de los folículos a los niveles de LH liberados (Fernández Baca *et al*, 1970c).

En llamas se registró una mayor tasa de preñez en los grupos que recibieron tratamiento hormonal con respecto al grupo control (cuadro 6), probablemente porque los folículos antes del empadre en el grupo que no recibió tratamiento hormonal se encontraban en un estadio de estática tardía o de regresión. Sin embargo, no se registraron diferencias significativas entre los tres grupos. En ese sentido, Cervantes (2004) reportó en alpacas con folículos dominantes en estadio de regresión existió una menor tasa de sobrevivencia embrionaria, aunque tampoco encontró diferencias entre los grupos de estudio. Además, en alpacas no existieron diferencias significativas entre las tasas de preñez en los grupos Control (78.6%) GnRH (77.8%) y LH (64.3%).

VI. CONCLUSIONES

- Los animales tratados con GnRH y LH para la sincronización de la onda folicular en alpacas y llamas tuvieron un comportamiento similar al grupo no tratado.
- la sincronización con GnRH o LH influyó en el día que el nuevo folículo dominante alcanzó un tamaño $\geq 7\text{mm}$ en llamas, y el tamaño folicular antes del empadre en alpacas y llamas
- La sincronización de la onda folicular no influyó sobre la tasa de ovulación posterior al empadre ni sobre la tasa de preñez.

VII. BIBLIOGRAFIA

- **Aba, M.; M. Forsberg; H. Kindahl; J. Sumar; L. Edqvist. 1995.** Endocrine changes after mating in pregnant and non-pregnant llamas and alpacas. *Acta Vet. Scand.* 36: 489-498.
- **Aba, M.; W. Bravo; M. Forsberg; H. Kindahl. 1997.** Endocrine changes during early pregnancy in the alpaca. *Anim. Reprod. Sci.* 47: 273-279.
- **Aba, M.; H. Kindahl; M. Forsberg; M. Quiroga; N. Auza. 2000.** Levels of progesterone and changes in prostaglandin F (2alpha) release during luteolysis and early pregnancy in llamas and the effect of treatment with flunixin meglumine. *Anim. Reprod. Sci.* 59: 87-97.
- **Aba, M.; M. Miragaya; M. Chaves; E. Capdevielle; B. Rutter; A. Agüero. 2005.** Effect of exogenous progesterone and eCG treatment on ovarian follicular dynamics in vicuñas (*Vicugna vicugna*). *Anim. Reprod. Sci.* 86: 153-161.
- **Adams, G.; P. Griffin; O. Ginther. 1989.** In situ morphologic dynamics of ovaries, uterus, and cervix in llamas. *Biol. Reprod.* 41: 551-558.

- **Adams, G.; J. Sumar; O. Ginther. 1990.** Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (*Lama glama*). J. Reprod. Fert. 90: 535-45.
- **Adams, G.; J. Sumar; O. Ginther. 1991.** Form and function of the corpus luteum in llamas. Anim. Reprod. Sci. 24: 127-138.
- **Adams, G.; M. Dominguez. 2000.** Ultrasonography in bovine practice - It's time. Proceedings of the annual meeting of the western canadian association of bovine practitioner. 4: 1-14.
- **Adams, G.; M. Ratto. 2001.** Reproductive biotechnology in south american camelids. Rev. Inv. Vet. (Perú). Suplemento 1: 134-141.
- **Adams, G. 2001.** Comparative aspects of follicular dynamics in camelids. Rev. Inv. Vet. (Perú). Suplemento 1: 142-147.
- **Aller, J.; A. Cancino; G. Rebuffi; R. Alberio. 1999.** Inducción de la ovulación en llamas. En: II Congreso Mundial sobre Camélidos. Resumen. p 91. Cusco, Perú.
- **Anderson, P. 1997.** Kinase cascades regulating entry into apoptosis. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 61 (1): 33-46.
- **Aparicio, M.; V. Leyva; W. García. 2001.** Copulación de alpacas durante el celo post ovulatorio sobre las tasas de preñez. Rev. Inv. Vet. (Perú). Suplemento 1: 473- 475.
- **Araínga, M.; V. Leyva; W. García; E. Franco. 2003.** Efecto de la GnRH en el proceso del reconocimiento maternal de la preñez sobre la supervivencia embrionaria en alpacas. Rev. Inv. Vet. (Perú). 14 (2): 104-110.
- **Arthur, G. 1991.** Reproducción y obstetricia veterinaria. Editorial Interamericana.
- **Basini, G.; M. Baratta; N. Ponderato; S. Bussolati; C. Tamani. 1998.** Is nitric oxide an autocrine modulator of bovine granulosa cell function?. Reprod. Fertile. Dev. 10: 471-478.
- **Bazer, F.; J. Vallet; R. Roberts; D. Sharp; W. Thatcher. 1986.** Role of conceptus secretory products in establishment of pregnancy. J. Reprod. Fertil. 76(2): 841-50.

- **Bazer, F.; J. Vallet; J. Harney; T. Gross; W. Thatcher. 1989.** Comparative aspects of maternal recognition of pregnancy between sheep and pigs. J. Reprod. Fertil. Suppl. 37: 85-9.
- **Bó, G.A; P.S. Baruselli; D. Moreno; L. Cutaia; M. Caccia; R. Tribulo; H. Tribulo; R.J. Mapletoft. 2002.** The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer program in cattle. Theriogenology (57) p.53-72.
- **Bourke, D.; C. Adam; C. Kyle. 1992.** Ultrasonography as an aid to controlled breeding in the llama (*Lama glama*). Vet. Rec. 130 (19): 424-428.
- **Bourke, D.; C. Kyle; T. Mc Evoy; P. Young; C. Adam. 1995.** Superovulatory responses to eCG in llamas (*Lama glama*). Theriogenology. 44: 255-268.
- **Bravo, W.; J. Sumar. 1989.** Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. Anim. Reprod. Sci. 30: 271-281.
- **Bravo, W.; M. Fowler; G. Stabenfeldt; B. Lasley. 1990a.** Ovarian follicular dynamics in the llama. Biol. Reprod. 43: 579-585.
- **Bravo, W.; M. Fowler; G. Stabenfeldt; B. Lasley. 1990b.** Endocrine responses in the llama to copulation. Theriogenology. 33 (4): 891-899.
- **Bravo, W.; G. Stabenfeldt; B. Lasley; M. Fowler. 1991.** The effect of ovarian follicle size on pituitary and ovarian responses to copulation in domesticated south american camelids. Biol. Reprod. 45: 553-559.
- **Bravo, W.; G. Stabenfeldt; M. Fowler; B. Lasley. 1992.** Pituitary response to repeated copulation and/ or Gonadotropin-Releasing Hormone administration in llamas and alpacas. Biol. Reprod. 47: 884-888.
- **Bravo, W. 1992.** La fase folicular del ciclo ovárico y la respuesta de la glándula pituitaria a la cópula repetida en la alpaca. Revista de investigaciones sobre Camélidos sudamericanos Allpak'a. (2) 1-8. Puno, Perú.
- **Bravo, W., J. Moscoso, J. Ordoñez, V. Alarcón. 1996a.** Transport of spermatozoa and ova in female alpaca. Anim Reprod Sci. 43:173-179.
- **Bravo, W.; D. Stewart; B. Lasley; M. Fowler. 1996b.** Hormonal indicators of pregnancy in llamas and alpacas. J. Am. Vet. Med. Assoc. 208 (12): 2027-30.
- **Bravo, W.; M. Mayta; C. Ordóñez. 2000.** Growth of the conceptus in alpacas. Am. J. Vet. Res. 61 (12): 1508-11.

- **Bravo, W.; L. Jiménez; V. Alarcón; C. Ordoñez. 2003.** El efecto de la Progesterona exógena en el ciclo ovárico de la alpaca hembra. Res. III Congreso mundial de Camélidos. Potosí, Bolivia.
- **Brown, B. 2000.** A review on reproduction in south american camelids. Anim. Reprod. Sci. 58 (3-4): 169-195.
- **Brussow, K.P.; F. Schneider; A. Tuchscherer; J. Ratky; R.R. Kraeling; W. Kanitz. 2007.** Luteinizing hormone release after administration of the gonadotropin-releasing hormone agonist Fertilan (goserelin) for synchronization of ovulation in pigs. J Anim Sci. 85 (1): 129-37.
- **Calderón, W. 1968.** Diagnóstico de preñez por el método de palpación rectal en alpacas. Boletín IVITA. 35-39.
- **Cancino, A.; J. Aller; G. Rebuffi; R. Alberio. 1999.** El uso del Norgestomet para la sincronización de la onda folicular en llamas en dos épocas del año (invierno y verano). En: II Congreso Mundial sobre Camélidos. Resumen. p.93. Cusco, Perú.
- **Carretero, M.; M. Chaves; A. Agüero; M. Miragaya. 2006.** Sincronización de la onda folicular mediante la administración de progesterona y benzoato de estradiol inyectables en la especie *Lama glama*. En: Res. del IV Congreso mundial sobre Camélidos. Santa Maria- Provincia de Catamarca, Argentina.
- **Cervantes, M. 2004.** Estudio del efecto del estadio del desarrollo folicular al momento de la monta sobre la ovulación y sobrevivencia embrionaria en alpacas. Tesis Medico Veterinario UNMSM. Lima -Perú.
- **Cervero, A.; F. Domínguez; J. Horcajadas; A. Quinonero; A. Pellicer; C. Simon. 2006.** The role of the leptin in reproduction. Curr. Opin. Obstet. Gynecol. 18 (3): 297-303.
- **Chan, J.; C. Mantzoros. 2001.** Leptin and the hypothalamic-pituitary regulation of the gonadotropin-gonadal axis. Pituitary. 4 (1-2): 87-92.
- **Chaves, M.; M. Aba; A. Agüero; J. Egey; V. Berestin; B. Rutter. 2002.** Ovarian follicular wave pattern and the effect of exogenous progesterone on follicular activity in non-mated llamas. Anim. Reprod. Sci. 69: 37-46.

- **Chun, S.; K. Eisenhauer; S. Minami; H. Billig; E. Perlas; A. Hsueh. 1996.** Hormonal regulation of apoptosis in early antral follicles: follicle-stimulating hormone as a major survival factor. *Endocrinology*. 137 (4): 1447-1456.
- **Chiri, R.; J. Mollo; G. Sempertegui. 2001.** Determinación de la pubertad en la llama hembra (*Lama glama*). *Revista de investigación – Camélidos sudamericanos*. UNEPCA-FCP-UTO. Oruro, Bolivia.
- **De Renis, F.; F. Lopez-Gatius. 2007.** Protocol for synchronizing estrus and ovulation in búfalo (*Bubalus bubalis*): A review. *Theriogenology* .67(2):209-16.
- **England, B.; W. Foote; D. Matthews; A. Cardozo; S. Riera. 1969.** Ovulation and corpus luteum function in the llama (*Lama glama*). *J. Endocr.* 45: 505-513.
- **Schneider, F.; W. Tomek.; C. Grundken. 2006.** Gonadotropin-releasing hormona (GnRH) and its natural analogues. A Review. *Theriogenology* 66(4) .691-709.
- **Fernández Baca, S.; W. Hansel; C. Novoa. 1970a.** Embryonic mortality in the alpaca. *Biol. Reprod.* 3: 243-251.
- **Fernández Baca, S.; W. Hansel; C. Novoa. 1970b.** Corpus luteum function in the alpaca. *Biol. Reprod.* 3: 252-261.
- **Fernández Baca, S.; D. Madden; C. Novoa. 1970c.** Effect of different mating stimuli on induction of ovulation in the alpaca. *J. Reprod. Fert.* 22: 261-267.
- **Fernández Baca, S.; C. Novoa and J. Sumar 1971.** Seasonal variations in the reproduction of the alpaca. (In Spanish). III Reun. Lat-Am. Prod. Anim. Bogotá, 110. Abstracted: *Anim. Breed. Abstr.* 40,336 (1972).
- **Fernández-Baca, S., J. Sumar, C. Novoa, V. Leyva. 1973.** Relación entre la ubicación del cuerpo lúteo y la localización del embrión en la alpaca. *Rev. Inv. Pec. (IVITA) Univ. Nac. S. Marcos* 2(2): 131-135.
- **Fernández-Baca, S., J. Sumar, C. Novoa. 1975.** Actividad funcional del ovario y cuerno uterino en la alpaca. An. V reunión ALPA. Maracay, Venezuela. pp. 99 (Abstract).
- **Fernández Baca, S.; W. Hansel; R. Saatman; J. Sumar; C. Novoa. 1979.** Differential luteolytic effects of right and left uterine horns in the alpaca. *Biol. Reprod.* 20: 586-595.

- **Fernández Baca, S. 1993.** Manipulation of reproductive functions in male and female new world camelids. Anim. Reprod. Sci. 33: 307-323.
- **Ferrer, M.; A. Agüero; M. Chaves; A. Russo; B. Rutter. 2002.** Sincronización de la onda folicular mediante el uso de buserelina en la llama (*Lama glama*). In Vet 4 (1): 7-11.
- **Findlay, J. 1993.** An update on the roles of inhibin, activin and follistatin as local regulators of folliculogenesis. Biol. Reprod. 48: 15-23.
- **Fortune, J.; J. Sirois; A. Turzillo; M. Savoir. 1991.** Follicle Selection in domestic ruminants. J. Reprod. Fétil. .Suppl. 43; 187-198.
- **Fuertes, Q. 1961.** Formación del cuerpo luteo y algunas observaciones en el endometrio de alpacas jóvenes durante los primeros días de la gestación. Tesis MV. UNMSM. Lima, Perú.
- **García, A; F. Castejón; L.F. De La Cruz; J. González; M.D. Murillo; G. Salido.1995.** Fisiología Veterinaria. 1era Edición.Editorila Mc Graw Hill.Madrid España.
- **Geisert, R.; G. Morgan; E. Short Jr.; M. Zavy. 1992.** Endocrine events associated with endometrial function and conceptus development in cattle. Reprod. Fétil. Dev. 4 (3): 301-5.
- **Ginther O.J; D. Bergfelt; M Beg; K. Kot.2202.** Role of low circulating FSH concentrations in controlling the interval to emergence of the subsequent follicles wave in cattle.Biology of reproduction. 66(4) 1111-8.
- **Ginther O. J; M. Beg; E. Donadeu .; D. Bergfelt D.2003.**Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. Anim Reprod Sci. 15:78. 239-57.
- **Hammond, J.; J. Mondschein; S. Samaras; S. Canning. 1991.** The ovarian insuline-like growth factors, a local amplification mechanism for steroidogenesis and hormone action. J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. 40 (1-3): 411-416.
- **Hafez, E. 2002.** Reproducción e inseminación artificial en animales domésticos. 7 ma edición. Editorial Mc graw hill. Madrid ,España
- **Huanca, W.; O. Cárdenas; C. Olazábal; M. Ratto; G. Adams. 2001.** Efecto hormonal y empadre sobre el intervalo a la ovulación en llamas. Rev. Inv. Vet. Suplemento 1: 462-463.

- **Huanca, W.; M. Ratto; A. Cordero; A. Santiani; T. Huanca; G. Adams. 2005.** Evaluación de un tratamiento de superovulación en la respuesta ovárica y tasa de preñez en llamas. En: Resúmenes de la XIX Reunión Asociación Latinoamérica de Producción Animal 26-29 Octubre. Tampico, México.
- **Kohram, H.; Twagiramungu; D. Bousquet; J. Durocher; L. Guilbault. 1998.** Ovarian superstimulation after follicular wave synchronization with GnRH at two different stages of the estrous cycle in cattle. *Theriogenology*. 49 (6): 1175-1186.
- **Kohram, H; G. Mohammadi; N. D- Moradi; M. Sheikhi; M.T. Beige-Nassiri. 2000.** Emergence of follicular waves with Gonadotropin-releasing hormona in buffalo. *Theriogenolgy* (53) 1:p.373
- **Leyva, V.; J. Sumar. 1981.** Evaluación del peso corporal al empadre sobre la capacidad reproductiva de hembras alpacas de un año de edad. En: Libro de Res. de proyectos de investigación realizados por la UNMSM (1980-1981) Tomo III. p. 39.
- **Leyva, V.; W. García. 1999a.** Efecto de la GnRH sobre la fertilización y sobrevivencia embrionaria en alpacas. En: II Congreso Mundial sobre Camélidos Resúmen. p. 90. Cusco, Perú.
- **Leyva, V.; W. García. 1999b.** Efecto de la prostaglandina sobre la vida del cuerpo lúteo en alpacas. En: II Congreso Mundial sobre Camélidos. Resumen. p.88. Cusco, Perú.
- **Leyva, V.; W. García. 1999c.** Efecto de la progesterona exógena sobre la función del cuerpo lúteo de alpacas. En: II Congreso Mundial sobre Camélidos. Resumen. p.87. Cusco, Perú.
- **López, A. 2004.** Inducción de la ovulación en llamas mediante la administración intramuscular del plasma seminal proveniente de llama, alpaca y bovino. Tesis Medico Veterinario. UNMSM. Lima, Perú.
- **Macmillan, K.; W. Thatcher. 1991.** Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biol. Reprod.* 45: 883-889.
- **Mantzoros, C. 2000.** Role of leptin in reproduction. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 900: 174-183.

- **Martinez, M.; G. Adams; D. Bergfelt; J. Kastelic; R. Mapletoft. 1999.** Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. Anim. Reprod. Sci. 57 (1-2): 23-33.
- **Martinez, M.F.; G.O. Adams; J.P. Kastelic; D.R. Bergfel; R.J. Mapletoft. 2000.** Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. Theriogenolgy 54 (5): 757-69.
- **Martinez, M.; J.P. Kastelic; G.P. Adam , R.J. Mapletoft . 2001.** The use of GnRH or estradiol to facilitatae fixed-time insemination in an MGA-based Synchronization régime in beef cattle. Animal Reprod Sci. 67 (3-4):221-9.
- **McCue, P.; M. Troedsson; I. Liu; G. Stabenfeldt; J. Hughes; B. Lasley. 1991.** Follicular and endocrine responses of anoestrous mares to administration of native GnRH or a GnRH agonist. J. Reprod. Fertil. Suppl. 44: 227-33.
- **Miragaya, M.; M. Chaves; A. Agüero. 2005.** Reproductive biotechnology in south american camelids. Small Ruminant Research.
- **Monniaux, D.; P. Monget; N. Besnard; C. Huet; C. Pisselet. 1997.** Growth factors and antral follicular development in domestic ruminants. Theriogenology. (47)Issue 1, 3-12.
- **Novoa, C. 1970.** Reproduction in camelidae. J. Reprod. Fert. 22: 3-20.
- **Novoa, C.; S. Fernández Baca; J. Sumar; V. Leyva. 1972.** Pubertad en la alpaca. Rev. Inv. Pec. (IVITA) 1(1): 29-35.
- **Novoa, C. 1989.** Reproducción de llamas y alpacas. Rev Cien Vet. Vol.5, N°5. Lima, Perú.
- **Novoa, C. 1992.** Reproducción de Camélidos. Rev. Cien. Vet. Vol.8, N° 4. Lima, Perú.
- **Novoa, C.; V. Leyva. 1996.** Reproducción en alpacas y llamas. Publicación Científica IVITA N° 26.
- **Olivera, L.; D. Zago; C. Jones; E. Bevilacqua. 2003.** Developmental changes at the materno-embryonic interface in early pregnancy of the alpaca, *Lama pacos*. Anat. Embryol. (Berl) 207 (4-5): 317-31.

- **Parraguez, V.; S. Cortez; F. Gazitua; G. Ferrando; V. Mc Niven; L. Raggi. 1997.** Early pregnancy diagnosis in alpaca (*Lama pacos*) and llama (*Lama glama*) by ultrasound. Anim. Reprod. Sci. 47: 113-1121.
- **Parvizi, N. 2000.** Neuroendocrine regulation of gonadotropins in the male and the female. Anim. Reprod. Sci. (60-61): 31-47.
- **Pérez, G. 1996.** Efecto de la GnRH (Gonadorelin) sobre el desarrollo folicular, método de ovulación y embriones en alpacas. Revista Allpak'a (5) N° 1. 50-68.
- **Pursley, J.; M. Kosorok; M. Wiltbank. 1997.** Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. J. Dairy Sci. 80:301-306.
- **Raggi, L.; T. Ullrich; G. Castellano; M. Zolezzi; R. Rojas; G. Ferrando; V. Parraguez. 1996.** Utilización de diferentes métodos de diagnóstico de gestación en un rebaño experimental de alpacas (*Lama pacos*) y llamas (*Lama glama*) en el altiplano de la I Región de Chile. Avances en Ciencias Veterinarias. Vol 11. N°1.
- **Raggi, A.; G. Ferrando; V. Parraguez; V. Mc Niven; B. Urquieta. 1999.** plasma progesterona in alpaca (*Lama pacos*) during pregnancy, parturition and early postpartum. Anim. Reprod. Sci. 54: 245- 249.
- **Ratto, M.; J. Singh; W. Huanca; G. Adams. 2003.** Ovarian follicular wave synchronization and pregnancy rate fixed – time natural mating in llamas. Theriogenology. 60: 1645-1656.
- **Ratto, M.; W. Huanca; J. Singh; G. Adams. 2006.** Comparison of the effect of natural mating, LH and GnRH on interval to ovulation and luteal function in llamas. Anim. Reprod. Sci. 91: 229-306.
- **Ríos, M. 1989.** Presencia de un factor de inducción de ovulación en el semen de la alpaca y el toro. Tesis MV. UNMSM. Lima, Perú.
- **Rodríguez, R. 1959.** Ovulación en las alpacas. Tesis MV. UNMSM. Lima, Perú.
- **Saelzer, P.; M. Hervé; A. Cid; S. Del Canto. 1989.** Diagnóstico de gestación temprana en ovejas mediante ecografía transrectal. Avances en Ciencias Veterinarias. Vol 4. N° 2: 136-145.
- **San Martin, M.; M. Copaira; J. Zúñiga; R. Rodríguez; G. Bustinza; L. Acosta. 1968.** Aspects of reproduction in the alpaca. J. Reprod. Fert. 16: 395-399.

- **Santiani, A.; V. Leyva; W. García. 2002.** Efecto inhibitorio de la progesterona sobre el desarrollo de la onda folicular en llamas. *Rev. Inv. Vet. Perú.* 13 (2):10-7.
- **Skidmore, J.; W. Allen; R. Heap. 1994.** Oestrogen synthesis by the peri-implantation conceptus of the one humped camel (*Camelus dromedaries*). *J. Reprod. Fertil.* Jul; 101(2): 363-7.
- **Skidmore, J. 2005.** Reproduction in dromedary camels: an update. *Anim. Reprod.* (2) n°3: 161-167.
- **Stevenson, J. 1997.** Clinical reproductive physiology of the cow. En: *Current Therapy in large animal. Theriogenology.* Edit by Younquist, R.
- **Smith, C.; A. Meter; D. Pugh. 1994.** Reproduction in llamas and alpacas: a review. *Theriogenology.* 41: 573-592.
- **Sumar, J.; V. Leyva. 1979.** Relación entre la ubicación del cuerpo lúteo y la localización del embrión en la llama (*Lama glama*). En: *Res. Proy. Inv. Realizadas por la UNMSM 1975-1979. Tomo II* pg 124.
- **Sumar, J. 1983.** Studies on Reproductive pathology in alpacas. Department of obstetrics and Gynecology. Faculty of Veterinary Medicine Swedish University of Agriculture Science, Upssala and Instituto Veterinario de Investigación de Trópico y Altura Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- **Sumar, J. 1993.** Efectos de los estímulos de inducción en la ovulación de alpacas y llamas. *Rev. Pec. Inv. IVITA (Perú)* 6 (1): 17-21.
- **Sumar, J. 1997.** Avances y perspectivas en reproducción de camélidos. En: *Memorias de I Symposium Internacional Avances en Reproducción de Rumiantes.* Lima. p. 30-44.
- **Sumar, J. 1999.** Reproduction in female south american domestic camelids. *J. Reprod. Fétil. Suppl.* 54: 169-78.
- **Sumar, J. 2002.** Llamas y alpacas. En: *Reproducción e inseminación artificial en animales.* Hafez, E.S.E.; B. Hafez (eds.) 7ª ed. en español. p 224-242. Ed. McGraw-Hill Interamericana S.A. De C.V. México DF

- **Tahtcher, W.; M. Drost; J. Savio; K. Macmillan; K. Entwistle; E. Schmitt; R. De la sota; G. Morris. 1993.** New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. Anim. Reprod. Sci. (33) issues1-4: 27-29.
- **Tahtcher, W.; M. Meyer; G. Danet-Desnovers. 1995.** Maternal recognition of pregnancy. J. Reprod. Fertil. Suppl. 49: 15-28.
- **Thomas, F.; D. Armstrong; E. Telfer. 2003.** Activin promotes oocyte development in ovine preantral follicles in vitro. Reprod. Biol. Endocrinol. 1: 76.
- **Turner, J.; C. Irvine. 1991.** The effect of various gonadotrophin-releasing hormone regimens on gonadotrophins, follicular growth and ovulation in deeply anoestrous mares. J. Reprod. Fertil. Suppl. 44: 213-25.
- **Vaughan, J. 2001.** Control of follicular waves in alpacas. Rev. Inv. Vet. (Perú). Suplemento 1: 112-114.
- **Vaughan, J.; K. Macmillan; G. Anderson; M. D'Occhio. 2003.** Effects of mating behaviour and the ovarian follicular state of female alpacas on conception. Aust. Vet. J. 81 (1-2): 86-90.
- **Vaughan, J.; K. Macmillan; M. D'Occhio. 2004.** Ovarian follicular wave characteristics in alpacas. Anim. Reprod. Sci. 80: 353–361.
- **Webb, B.; B. Nicholas; J. Gong; B. Campbell; C. Gutierrez; H. Garverick; D. Armstrong. 2003.** Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. Reprod. Suppl. (61)71-90.
- **Zúñiga, J. 1958.** El celo en las alpacas. Tesis de Bachiller en Medicina Veterinaria-UNMSM. Lima, Perú.

VIII. ANEXOS

Anexo 1.- Ovulación a los tratamientos en alpacas y llamas.

Alpacas

Ovulación tratamientos			
Grupo	No	Si	Total
Control	19	1	20
	95.00	5.00	100.00
	70.37	3.03	33.33
GnRH	2	18	20
	10.00	90.00	100.00
	7.41	54.55	33.33
LH	6	14	20
	30.00	70.00	100.00
	22.22	42.42	33.33
Total	27	33	60
	45.00	55.00	100.00
	100.00	100.00	100.00

Pearson chi2 (2) = 31.9192 Pr = 0.000

Llamas

Ovulación tratamientos			
Grupo	No	Si	Total
Control	17	3	20
	85.00	15.00	100.00

	80.95	7.69	33.33
GnRH	2	18	20
	10.00	90.00	100.00
	9.52	46.15	33.33
LH	2	18	20
	10.00	90.00	100.00
	9.52	46.15	33.33
Total	21	39	60
	35.00	65.00	100.00
	100.00	100.00	100.00

Pearson chi2 (2) = 32.9670 Pr = 0.000

Anexo 2.- Ovulación post empadre en alpacas y llamas

Alpacas

Grupo	Ovulación post empadre		Total
	No	Si	
Control	2	12	14
	14.29	85.71	100.00
	40.00	29.27	30.43
GnRH	1	17	18
	5.56	94.44	100.00
	20.00	41.46	39.13
LH	2	12	14
	14.29	85.71	100.00
	40.00	29.27	30.43
Total	5	41	46
	10.87	89.13	100.00
	100.00	100.00	100.00

Pearson chi2(2) = 0.8619 Pr = 0.650

Llamas

Grupo	Ovulación post empadre		Total
	No	Si	
Control	6	11	17
	35.29	64.71	100.00
	50.00	26.83	32.08
GnRH	2	16	18
	11.11	88.89	100.00
	16.67	39.02	33.96
LH	4	14	18
	22.22	77.78	100.00
	33.33	34.15	33.96

Total	12	41	53
	22.64	77.36	100.00
	100.00	100.00	100.00

Pearson chi2(2) = 2.9219 Pr = 0.232

Anexo 3.- Diagnóstico de preñez en los grupos de tratamiento de alpacas y llamas.

Alpacas

Grupo	dx preñez		Total
	No	Si	
Control	3	11	14
	21.43	78.57	100.00
	25.00	32.35	30.43
GnRH	4	14	18
	22.22	77.78	100.00
	33.33	41.18	39.13
LH	5	9	14
	35.71	64.29	100.00
	41.67	26.47	30.43
Total	12	34	46
	26.09	73.91	100.00
	100.00	100.00	100.00

Pearson chi2 (2) = 0.9700 Pr = 0.616

Llamas

Grupo	dx preñez		Total
	No	Si	
Control	9	8	17
	52.94	47.06	100.00
	45.00	24.24	32.08
GnRH	6	12	18
	33.33	66.67	100.00
	30.00	36.36	33.96
LH	5	13	18
	27.78	72.22	100.00
	25.00	39.39	33.96

Total	20	33	53
	37.74	62.26	100.00
	100.00	100.00	100.00

Pearson chi2 (2) = 2.5810 Pr = 0.275

3.1. Diagnóstico de preñez en los grupos de tratamiento de alpacas y llamas de acuerdo al número de animales con los que se inicio el estudio en cada grupo.

Alpacas

Grupo	dx preñez		Total
	No	Si	
Control	9	11	20
	45.00	55.00	100.00
	34.62	32.35	33.33
GnRH	6	14	20
	30.00	70.00	100.00
	23.08	41.18	33.33
LH	11	9	20
	55.00	45.00	100.00
	42.31	26.47	33.33
Total	26	34	60
	43.33	56.67	100.00
	100.00	100.00	100.00

Pearson chi2(2) = 2.5792 Pr = 0.275

Llamas

Grupo	dx Preñez		Total
	No	Si	
Control	12	8	20
	60.00	40.00	100.00
	44.44	24.24	33.33
GnRH	8	12	20
	40.00	60.00	100.00
	29.63	36.36	33.33
LH	7	13	20
	35.00	65.00	100.00

	25.93	39.39	33.33
Total	27	33	60
	45.00	55.00	100.00
	100.00	100.00	100.00

Pearson chi2(2) = 2.8283 Pr = 0.243

Anexo 4.- Día de emergencia folicular post tratamiento en alpacas y llamas

Alpacas

Grupo	N	mean	sd	min	max
Control	14	4.5	1.224745	3	7
GnRH	18	4.333333	1.371989	3	7
LH	14	4.5	1.224745	3	7
Total	46	4.434783	1.258786	3	7

Llamas

Grupo	N	mean	sd	min	max
Control	17	4.705882	1.212678	3	7
GnRH	18	4.611111	1.243283	3	7
LH	18	4	1.188177	3	7
Total	53	4.433962	1.232718	3	7

Anexo 5.- Día que alcanza el tamaño preovulatorio post tratamientos en alpacas y llamas

Alpacas

Grupo	N	mean	sd	min	max
Control	14	8.357143	1.984833	5	11
GnRH	18	9.055556	1.589385	5	11
LH	14	7.928571	2.017778	5	11
Total	46	8.5	1.870829	5	11

Llamas

Grupo	N	mean	sd	min	max
Control	17	9.470588	.9432422	7	11
GnRH	18	7.944444	1.625974	5	11
LH	18	6.777778	1.555089	4	10
Total	53	8.037736	1.775498	4	11

Anexo 6.- Tamaño folicular antes del empadre en alpacas y llamas

Alpacas

Grupo	N	mean	sd	min	max
Control	14	7.214286	1.251373	4	9
GnRH	18	6.777778	1.352799	2	8
LH	14	8.928571	1.940035	6	12
Total	46	7.565217	1.759447	2	12

Llamas

Grupo	N	mean	sd	min	max
Control	17	6.411765	1.325652	2	8
GnRH	18	8.5	.6183469	8	10
LH	18	10.38889	3.599655	3	19
Total	53	8.471698	2.749852	2	19

Anexo 7.- Anova de una vía para el día de emergencia, día que alcanza el tamaño preovulatorio y diámetro folicular (mm) antes del empadre en alpacas y llamas

7.1 Anova de una vía para el día de emergencia

Alpacas (diaemerg)					
Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	.304347826	2	.152173913	0.09	0.9121
Within groups	71	43	1.65116279		
Total	71.3043478	45	1.58454106		

Bartlett's test for equal variances: chi2 (2)= 0.2604 Prob>chi2= 0.878

Llamas(diaemerg)					
Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	5.21167838	2	2.60583919	1.77	0.1816
Within groups	73.8071895	50	1.47614379		
Total	79.0188679	52	1.51959361		

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(2) = 0.0342$ Prob> $\chi^2 = 0.983$
 7.2 Anova de una vía para el día que alcanza el tamaño preovulatorio

Alpacas (dia tamaño preovul)					
Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	10.4126984	2	5.20634921	1.52	0.2298
Within groups	147.087302	43	3.42063492		
Total	157.5	45	3.5		

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(2) = 1.0207$ Prob> $\chi^2 = 0.600$

Llamas (dia tamaño preovul)					
Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	63.6336786	2	31.8168393	15.86	0.0000
Within groups	100.29085	50	2.00581699		
Total	163.924528	52	3.15239478		

Bartlett's test for equal variances: $\chi^2(2) = 4.9992$ Prob> $\chi^2 = 0.082$

Comparison of día tamaño preovul by grupo llamas (Bonferroni)

Row Mean-		
Col Mean	Control	GnRH
GnRH	-1.52614 0.007	
LH	-2.69281 0.000	-1.16667 0.051

7.3 Anova de una vía para el diámetro folicular antes del empadre

Alpacas (tamaño fol. preempadre)					
Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	38.9075224	2	19.4537612	8.33	0.0009
Within groups	100.396825	43	2.33480989		
Total	139.304348	45	3.09565217		

Bartlett's test for equal variances: chi2 (2) = 3.0307 Prob>chi2= 0.220
 Comparison of mm preemp by grupo
 (Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	Control	GnRH
GnRH	-.436508 1.000	
LH	1.71429 0.015	2.15079 0.001

Llamas (tamaño fol. preempadre)					
Analysis of Variance					
Source	SS	df	MS	F	Prob > F
Between groups	138.312122	2	69.1560612	13.57	0.0000
Within groups	254.895425	50	5.0979085		
Total	393.207547	52	7.5616836		

Bartlett's test for equal variances: chi2 (2)= 44.0406 Prob>chi2= 0.000

Comparison of mm preemp by grupo
 (Bonferroni)

Row Mean- Col Mean	Control	GnRH
GnRH	2.08824 0.026	
LH	3.97712 0.000	1.88889 0.046

Anexo 8.- Ficha de registro ecográfico de alpacas y llamas

Subproyecto: "Aplicación de Biotecnologías reproductivas como herramientas para mejorar la productividad de alpacas y llamas"

Nº 05-0015-AG-INCAGRO/FDSE-UNMSM

Arete: Especie: Raza:

Día	Ovario derecho	Ovario izquierdo	Observación
	